BEITRÄGE

ZUR

KENNTNISS DER CHROMATOPHOREN.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

KÖNIGLICHEN FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT

ZU ERLANGEN

VORGELEGT

VON

HANS BREDOW
AUS CÖSLIN.

BERLIN 1890.
GEBRÜDER BORNTRAEGER
(ED. EGGERS).

BEITRÄGE

ZUR

KENNTNISS DER CHROMATOPHOREN.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

KÖNIGLICHEN FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT

ZU ERLANGEN

VORGELEGT

VON

HANS BREDOW
AUS CÖSLIN.

BERLIN 1890.
GEBRÜDER BORNTRAEGER
(ED. EGGERS).

(Separat-Abdruck aus Pringsheim's Jahrbüchern für wissenschaftliche Botanik Band XXII, Heft 3.)

SEINER

THEUREN MUTTER

IN

LIEBE UND VEREHRUNG

SOWIE

HERRN PROFESSOR

DR. ALEXANDER TSCHIRCH

IN

HOCHACHTUNG UND DANKBARKEIT

GEWIDMET

VOM

VERFASSER.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545817_0121

I. Ueber das Verhalten der Chlorophyllkörper bei der Entwickelung und der Keimung des Samens.

Die merkwürdige Erscheinung des Farbenwechsels vieler reifenden und keimenden Samen hat schon lange die Aufmerksamkeit der botanischen Physiologen und Anatomen auf sich gezogen, und namentlich war es der Same von Lupinus, welcher hierdurch das Interesse erregte. Von diesem sagt noch jüngst Tschirch in seiner Anatomie[1]): „Ganz eigenartig verhält sich Lupinus. Hier sind die Cotyledonen Anfangs farblos, je weiter der Same reift, um so tiefer färben sie sich grün, indem zahlreiche kleine, scheibenförmige Chloroplasten durch Theilung vorhandener farbloser Chromatophoren (Leukoplasten) in den Zellen auftreten. Sobald der Same jedoch seine völlige Reife erlangt hat, die Flecke auf der Oberfläche auftreten und das Nährgewebe collabirt ist, ist der Farbstoff aus den Chloroplasten wieder verschwunden und es sind Aleuronkörner in den Zellen entstanden. Lässt man nun den Samen keimen, so ergrünen die Cotyledonen, die Schale durchbrechend, rasch von Neuem, in den farblosen Chromatophoren (Leukoplasten) entsteht wiederum der Chlorophyllfarbstoff."

1) A. Tschirch, Pflanzenanatomie. Wien und Leipzig 1889, p. 54.

Anknüpfend an diese Bemerkung habe ich nun die Frage nach dem Verhalten der Chlorophyllkörper in den Samen näher zu studiren unternommen.

Bis in die jüngste Zeit war man allgemein der Ansicht, dass bei dem Reifen der Samen und dem Verschwinden des Farbstoffes darin auch die plasmatische Grundmasse der Chlorophyllkörper aufgelöst und dass dann bei dem Keimen des Samens die Chromatophoren von Neuem aus dem Zellplasma gebildet würden.[1]) Diese Beobachtungen der früheren Forscher entsprechen nun nicht der Wirklichkeit, und es wäre auch heute noch nicht möglich das wahre Verhalten der Chlorophyllkörper in den reifenden und keimenden Samen festzustellen, wenn nicht die vorzüglichen Immersions-Linsen der Neuzeit uns die Untersuchungen bedeutend erleichtert hätten. Die Zellen in diesem Entwickelungsstadium sind dermaassen mit plastischen Stoffen erfüllt, dass die kleinen Chlorophyllkörper von ihnen fast vollständig verdeckt und die an ihnen vor sich gehenden Veränderungen nur mit den besten Objectiven erkannt werden können.

Das Aeussere der Chlorophyllkörper in den Samen während der verschiedenen Entwickelungsstadien ist auch ein dermaassen Verschiedenes, dass es ganz erklärlich ist, wenn die früheren Forscher mit ihren weniger guten Mikroskopen das äusserst kleine, farblose und eingetrocknete Stroma der Chlorophyllkörper nicht für einen Metamorphose-Zustand dieser, sondern, wenn sie dasselbe überhaupt aufzufinden vermochten, vielleicht für Mikrosomen des körnigen Protoplasma hielten. Auch jetzt würde man, ohne die Entwickelung genau verfolgt zu haben, schwerlich einen genetischen Zusammenhang zwischen den mit einer deutlichen Structur versehenen läppchenartigen Chlorophyllkörpern der reifenden Samen, den matten, fast structurlosen, z. Z. functionslosen, und deshalb auch wohl so reducirten Körnchen der ruhenden Samen, den kleinen Körperchen der Theilungsstadien und den, wie es auf den ersten Blick scheinen will, aus einer homogenen Masse bestehenden Chlorophyllkörpern der keimenden Samen vermuthen. Und doch sind es die nämlichen Gebilde, wie die Beobachtungen, die ich in Folgendem gebe, zeigen werden. Die überaus zahlreichen Chlorophyllkörper einer jungen Pflanze verdanken ihr Dasein niemals einer Neubildung aus dem

1) Sachs, Handbuch der Experimental-Physiologie. Leipzig 1865, p. 313 u. ff.

Protoplasma; sie entstehen vielmehr nur aus Chlorophyllkörpern, welche bereits in den reifenden Samen vorhanden waren und in den ruhenden Samen nicht aufgelöst wurden, sondern nur mit diesen eine Ruheperiode durchmachten.

Bei Lupinus luteus enthalten schon die wenigzelligen Embryonen Chlorophyllkörper. In diesem jugendlichen Zustande erfüllt das Protoplasma als eine schleimige, homogene Masse, in der sich zahlreiche kleine Körnchen befinden, noch vollständig das Lumen der Zelle. Die meisten Chlorophyllkörper sind hier wandständig und bilden, da sie dichtgedrängt sind, einen Chlorophyllbelag, der die Membran der Zelle fast vollständig bedeckt. Dieser Belag besteht fast nur aus einer einzigen Lage von Körnern. Ausser in dieser Weise angeordnet liegen die Chlorophyllkörper, wenn auch weniger zahlreich, ziemlich gleichmässig in dem Protoplasma eingebettet, in der Nähe des Zellkernes nicht reichlicher wie an anderen Stellen. Diese Lagerung der Chlorophyllkörper in der Zelle bleibt so lange die nämliche, bis die Cotyledonen, immer mehr heranwachsend, einen grösseren Gewebecomplex bilden und ungefähr den dritten Theil ihrer definitiven Grösse erlangt haben. Mit dem Wachsthum der Cotyledonen nimmt aber auch die einzelne Zelle an Grösse zu, und da das Protoplasma, welches ihr Lumen bis jetzt noch vollständig erfüllte, nicht in gleichem Maasse damit sein Volumen vermehrt, so bilden sich bald mit Zellsaft erfüllte Vacuolen. Diese Anfangs kleinen Vacuolen fliessen bald zu grösseren zusammen; niemals bildet sich jedoch in den Cotyledonen von Lupinus ein einziger grösserer Saftraum, welcher von dem an die Zellmembran zurückweichenden Protoplasma eingeschlossen wird; immer sind mehrere Vacuolen vorhanden, welche von dünnen Plasmafäden getrennt werden, und in denen sich auch der Zellkern befindet. Durch diese Aenderung der Gestalt des Protoplasma wird auch die Lagerung der Chlorophyllkörper modificirt, welche jetzt nicht mehr in dem Innern der Zelle gleichmässig vertheilt liegen, sondern sich in dem wandständigen Protoplasma und in Reihen in den vom Zellkern strahlig ausgehenden Plasmafäden befinden. Da bei der Vacuolenbildung sich das Protoplasma in der Umgebung des Zellkernes in reichlicher Menge angehäuft hat, so sind hier die Chlorophyllkörner in ganz besonders grosser Anzahl vorhanden. Auch an der Membran liegen die Chlorophyllkörper nicht mehr als eine einreihige Schicht, sondern

sind vielfach, meist in den Zellecken, zu grösseren Gruppen vereinigt. Nie befinden sie sich in dem Zellsaft der Vacuolen, sondern sind stets in dem Protoplasma dermaassen eingebettet, dass sie allseitig von ihm umgeben und eingehüllt werden, wenngleich häufig auch nur von einer äusserst dünnen Schicht. Dies ist mitunter nicht leicht zu erkennen, am schwierigsten dort, wo sie in den Ecken dicht gedrängt liegen. Legt man jedoch einen guten Schnitt direct in Ueberosmiumsäurelösung, so ist dies zweifellos klar. Jedes Korn wird dann nicht nur von einer hyalinen Hüllhaut umschlossen erkannt, sondern auch an den Stellen, wo dies in anderen Einlegungsmedien noch am meisten zweifelhaft erschien, sieht man, dass eine äusserst geringe Plasmamenge die Chromatophoren noch von der Zellwand resp. den Vacuolen trennt. Betrachtet man die Chlorophyllkörper in Oel als Medium, so ist es sehr schwierig den Unterschied zwischen farblosem Protoplasma und der hyalinen Hüllhaut festzustellen; in Ueberosmiumsäurelösung ist dies bedeutend leichter, da auch die zarteste Schicht Protoplasma durch dies Reagens körnig fixirt wird. Weniger brauchbar habe ich Picrinsäure- und alkoholische Sublimatlösung gefunden. Wenngleich letztere ja auch das Protoplasma und die Chlorophyllkörner gut härtet, so erscheinen diese doch nach der Einwirkung des Reagens nicht mehr so intact wie bei den Oelpräparaten. Das Quecksilberchlorid hat sicher ausser der inneren chemischen auch eine äussere, deutlich sichtbare morphologische Veränderung an dem Korn hervorgerufen. Dies Umschlossensein der Chlorophyllkörper von einer hyalinen Hüllhaut und einer, wenn auch noch so geringen Menge Protoplasma, ist eine physiologische Nothwendigkeit. Denn da der Zellsaft in den Cotyledonen von Lupinus, bevor sich noch Calciumoxalatkrystalle ausgeschieden haben, die Oxalsäure[1]) gelöst enthält, so würde, wenn diese direct an das Chlorophyllkorn heranzutreten vermöchte, der Farbstoff, der doch wie bekannt, auch gegen organische Säuren sehr empfindlich ist, sofort verändert werden; so aber wird der schädliche Einfluss abgehalten.

Die Art der Lagerung der Chlorophyllkörper in den verschiedenen Parthien der Cotyledonen ist überall ziemlich die gleiche, nur enthalten die nach aussen liegenden Zellen der Samenlappen reich-

1) A. Tschirch, Untersuchungen über das Chlorophyll. Berlin 1884, p. 10.

lichere Mengen wie die inneren. In den jugendlichen Zuständen der Samen, in denen auch die Testa noch grün ist und keine Flecken erkennen lässt, erscheint das ganze Gewebe der Cotyledonen noch als ein gleichmässiges, mit Ausnahme der Epidermis, welche bereits in den frühesten Entwickelungsstadien differenzirt ist. Erst allmählich, bei der fortschreitenden Reife, bildet sich eine Bilateralität der Cotyledonen heraus, indem die unter der Epidermis der Innenseite gelegene Zellschicht zu Palissadenzellen wird. Zu gleicher Zeit gehen aus einzelnen Epidermiszellen durch Theilungen Spaltöffnungen hervor und zwar treten dieselben auf der inneren, der Palissadenseite, reichlicher auf, wie auf der Aussenseite. Wenn ich nun aber auch schon erwähnte, dass die äusseren Parthien der Cotyledonen mehr Chlorophyllkörner enthalten, wie die inneren, so sind erst recht die Palissadenzellen am reichlichsten damit versehen. Aber nicht vielleicht deshalb, weil jetzt bereits eine lebhafte Assimilation in ihnen stattfände, sondern weil sie bei der späteren Keimung, wenn die jugendliche Pflanze noch keine Primordialblätter entwickelt hat, das Assimilationsgewebe der Keimblätter *κατ' ἐξοχήν* darstellen sollen. Auch die Epidermis der Cotyledonen, sowohl der Aussen- wie der Innenseite, enthält in reichlicher Menge Chlorophyllkörner. Dies möchte zuerst auffallend erscheinen. Es findet jedoch seine Erklärung darin, dass die Einwirkung des Lichtes auf die Cotyledonen durch den Einschluss dieser in der Hülse und der Testa (wenngleich beide ja auch, wie ich mit dem Diaphanoskop nachweisen konnte, für Licht durchlässig sind) bedeutend abgeschwächt wird, und doch auch die Epidermis der Blattunterseite einiger Phanerogamen, namentlich der Dicotylen Chlorophyllkörper enthält. An schattigen Orten führt ja auch, wenn auch selten, die Epidermis der Blattoberseite mitunter Chlorophyllkörper.

Sowohl in der Epidermis als auch in den Palissadenzellen und dem Mesophyll der Cotyledonen von Lupinus bilden sich schon früh Globoide, und kurze Zeit darauf scheiden sich aus dem Zellsaft ein, mitunter auch zwei Calciumoxalatkrystalle aus. Zur Zeit, wenn die Cotyledonen bereits eine grüngelbe Farbe annehmen, beginnt in den Zellen die Bildung von Aleuronkörnern, welche jedoch so schnell stattfindet, dass man ein Wachsen derselben kaum beobachten kann. Durch Umlagern der Calciumoxalatkrystalle mit der Grundmasse bildet sich der durch seine Grösse ausgezeichnete Solitär. Da die

Stränge des Protoplasma in die Grundmasse der Aleuronkörner mit übergehen, so werden dadurch die Chlorophyllkörper in die schmalen Streifen gedrängt, welche sich zwischen den Aleuronkörpern befinden, und hier sind sie dann noch in den halbreifen grüngelblichen Cotyledonen als Körper von gleicher Farbe zu erkennen.

Um das Verhalten der Chlorophyllkörper in den Cotyledonen noch grüner unreifer Samen und die event. Bildung von Aleuronkörnern in den Zellen der letzteren beim Trocknen zu beobachten, nahm ich unreife Samen von Lupinus luteus, welche eine Länge von 11 mm und eine Breite von 6 mm hatten und deren äussere Farbe blaugrün, die innere tiefgrün war, und die im frischen Zustande noch kein Aleuron enthielten, aus der Hülse, präparirte sie aus der Testa und zerschnitt sie in winzig kleine Stücke. Nachdem dieselben bei einer Zimmertemperatur von 18° C. vier Wochen lang eintrockneten, waren die Aleuronkörner wesentlich so wie in den reifen Samen entstanden; die Zellmembranen jedoch waren wegen des Mangels an reichlicheren Reservestoffen wellig gebogen. Die Cotyledonen hatten ihre tiefgrüne Farbe bewahrt. Die Chlorophyllkörner waren durch das Eintrocknen etwas kleiner geworden, aber sowohl was ihre Structur als auch ihre Farbe betraf, noch wohl erhalten. Sie lagen in Gruppen in den Zellecken und auch, wie in den völlig reifen Samen, in den schmalen Streifen zwischen den Aleuronkörnern.

Andere Cotyledonen von demselben Alter und der gleichen Farbe, welche, mit Ausnahme des Zerschneidens, ebenso behandelt wurden, zeigten das nämliche Verhalten.

Zu einem dritten Versuche wurden die Samen in der unverletzten Hülse gelassen und mit dieser, ebenfalls bei einer Temperatur von 18° C., während vier Wochen getrocknet. Jetzt besassen die Cotyledonen keine grüne Farbe mehr, sondern eine gelbliche, wie die reifen Samen, und die Samenschale zeigte bereits einige Flecke. Die Aleuronkörner hatten sich ebenso wie bei den ersten beiden Versuchen gebildet; die Chlorophyllkörper lagen auch jetzt in den Streifen zwischen ihnen und hatten nur wenig von ihrer Grösse verloren. Der grüne Farbstoff jedoch war völlig verschwunden und die Chromatophoren waren nur noch sehr schwach gelblich, fast farblos. Aus diesen drei Versuchen geht also hervor, dass die Aleuronkörner beim Eintrocknen unreifer Samen fast ebenso entstehen wie bei der allmählichen Reife, dass die Chlorophyllkörper jedoch nur dann ihren

grünen Farbstoff verlieren, wenn sie im organischen Zusammenhang mit der Hülse bleiben.

Was nun die Gestalt der Chlorophyllkörper bei den verschiedenen Entwickelungsstadien der Cotyledonen von Lupinus bis zur Reife betrifft, so ist dieselbe nicht immer die nämliche. Aber es ist nicht etwa die Grundgestalt eine wechselnde, sondern es sind nur Unterschiede in der Form, wie sie in der fortschreitenden Entwickelung und in der Einwirkung äusserer Umstände durch die Plasticität der Grundmasse der Chlorophyllkörper begründet sind. Die Grundgestalt, welche die eines läppchenartigen Gebildes ist, wird dadurch nicht verändert. In den jugendlichen Embryonen haben die Chlorophyllkörper im Durchschnitt eine Grösse von drei Mik. Die im Zellinneren liegenden Körner, deren Form durch keinen äusseren Einfluss modificirt wird, erscheinen läppchenartig, sie sind häufig an dem einen Ende breiter wie an dem anderen, mitunter jedoch auch von fast regelmässiger ovaler Gestalt. Die wandständigen Körner sind immer länglich in der Richtung der Membran, und ihre dem Zellinneren zugekehrte Seite ist etwas gewölbt. Bei den weiteren Entwickelungsstadien der Cotyledonen orientiren sich, wie oben angegeben, die Chlorophyllkörper in verschiedener Weise in der Zelle. Die in den Plasmafäden befindlichen nehmen eine der Richtung der Fäden entsprechende längliche Form an, ihre Länge ist ungefähr doppelt so gross wie ihre Breite; die in der Umgebung des Zellkernes befindlichen sind von der für sie im Allgemeinen charakteristischen, läppchenartigen Gestalt. Aehnlich gebildet sind auch die in den Zellecken zu Gruppen vereinigten Körner; wo sie jedoch sehr dicht liegen und in Folge dessen einen gegenseitigen Druck ausüben, nehmen sie eine deutliche polyedrische Form an. Liegen dann zuletzt bei der Bildung der Aleuronkörner die Chromatophoren in den Plasmastreifen zwischen diesen, so erscheinen sie theils wiederum länglich, theils läppchenartig, aber nicht polygonal.

In dem Zellsaft der grünen Samenlappen von Lupinus ist nur in äusserst geringer Menge transitorische Stärke nachzuweisen. Die Chlorophyllkörper jedoch erzeugen in ihrem Inneren kleine Stärkekörnchen, theils einzelne, theils mehrere. Diese Amylumkörner innerhalb der Chlorophyllkörper besitzen jedoch nie ein so grosses Volumen, dass sie die Gestalt und den Bau der letzteren beeinflussten. Sie bleiben im Gegentheil meist so klein, dass sie, wo sie zu mehreren vor-

handen sind, durch die Grundmasse des grünen Chromatophors noch von einander getrennt werden und in dem letzteren ohne Anwendung von Reagentien nicht zu erkennen sind. Meist vermag man dies jedoch, wenn man die Chlorophyllkörner mit Alkohol entfärbt und dann Jodlösung hinzutreten lässt. In den Chlorophyllkörnern der Epidermiszellen wollte es mir auch so nicht gelingen, die Stärke in den Chromatophoren nachzuweisen. Ich vermochte es jedoch auch hier dadurch, dass ich den Chlorophyllkörnern ebenfalls mit Alkohol den Farbstoff entzog, dann durch Einwirken von Kalilauge ein Aufquellen des Amylums verursachte, das Alkali mit Essigsäure neutralisirte und Jod zusetzte. Die eintretende blaue Färbung bewies dann, dass auch die Chlorophyllkörper der Epidermis assimilatorisch in Thätigkeit waren. Erst bei der vollständigen Reife der Samen enthalten die Chlorophyllkörper gar keine Stärke mehr, wahrscheinlich wohl deshalb, weil einestheils das Verschwinden des Chlorophyllfarbstoffes die Erzeugung neuen Amylums ausschliesst, und anderentheils die schon gebildete Stärke sich in Oel, den stickstofffreien Reservestoff der Lupinensamen, verwandelt hat. Löst man, wie oben angegeben, noch unreife Samen von Lupinus aus der Hülse und lässt sie eintrocknen, so bleibt nicht nur der grüne Farbstoff in den Chromatophoren erhalten, sondern es ist dann auch noch, nach Entfärbung der letzteren, in ihnen die Stärke nachzuweisen. Für die Ueberführung der assimilatorischen Stärke der Chlorophyllkörper der Samen in andere Producte (bei Lupinus in Oel) ist also völlige Reife ein unbedingtes Erforderniss.

Um die Structur der Chlorophyllkörper zu untersuchen, betrachtete ich sie in Oel als Medium, welches sowohl auf die Chromatophoren nicht einwirkt als auch in den reifen Samen die Aleuronkörner intact erhält, wodurch das Undeutlichwerden der Präparate vermieden wird. Wenngleich nun im Grossen und Ganzen diese Chlorophyllkörper wegen ihrer geringen Grösse auch nicht sehr zum Structurstudium geeignet sind, so fand ich doch auch bei ihnen wieder, was ich bereits an besseren Objecten beobachtet hatte, ein Balkengerüst, in dessen Maschen der Farbstoff sich befindet. Untersucht man nur mit schwachen Linsen, so erhält man den Eindruck, als wenn dunklere Farbstoffkörnchen in eine fast farblose homogene Grundmasse eingebettet wären; bei einer sorgfältigeren Betrachtung jedoch mit homogener Immersion kann man auch hier erkennen,

dass die scheinbaren Körnchen nicht solche Körper sind, sondern die ganz verschieden gestalteten Hohlräume eines Balkengerüstes bilden, in welche der grüne Farbstoff eingelagert ist. Die einzelnen Balken anastomosiren mit einander und geben als Grundgerüst dem Korn seine Form. Sie bestehen aus einer sehr weichen, plastischen Proteïnmasse, welche, wie ich bereits gezeigt habe, bei den geringsten äusseren Eindrücken eine Gestaltsveränderung erleidet. Dass die verschiedenen Balken eines Kornes nicht in einer Ebene liegen, war weniger gut zu erkennen; bei besonders günstigen Objecten konnte ich jedoch sehen, wie einzelne Balkenköpfe aus der Tiefe als hellere Stellen zum Vorschein kamen. Am wenigsten gut ist die Structur bei den Chlorophyllkörpern in den jugendlichen Samen zu erkennen, hier erscheint das ganze Korn als ziemlich gleichmässige homogene Masse, in der erst bei Einwirkung von Ueberosminiumsäurelösung die dunkleren Parthien, wenn auch nur schwach, hervortreten. Immer gut waren die unregelmässigen Maschenräume der Chlorophyllkörper in dem letzten grünen Reifestadium, kurz bevor die Cotyledonen die gelbe Farbe annehmen, zu erkennen. Die Existenz eines Plasmahäutchens um die Chlorophyllkörper lässt sich in Oelpräparaten nur schlecht nachweisen, da das verschiedene Lichtbrechungsvermögen des Oels und des Wassers leicht zu optischen Täuschungen Anlass giebt.

Gegen Wasser sind die Chlorophyllkörper der Cotyledonen von Lupinus sehr empfindlich. Die Balken quellen zuerst etwas auf, und die Hüllhaut tritt an einzelnen Stellen blasig hervor; dann entstehen ein oder mehrere Vacuolen, welche sich jedoch bald vereinigen und das Korn als eine gleichmässig grün gefärbte Masse erscheinen lassen, in der von einer Structur nichts mehr zu erkennen ist.

Ganz concentrirte Kalilauge lässt die Chlorophyllkörper eine Zeit lang, wie es scheinen will, unverändert; lässt man dann jedoch Wasser hinzutreten, so entsteht sofort eine homogene hyaline Masse.

Conc. dreissigprocentige Chlornatriumlösung und conc. Bromkaliumlösung veränderten das Korn nicht; sie liessen im Gegentheil die Structur noch besser erkennen wie die Oelpräparate. Nach einer Einwirkung des ersten Reagens während 36 Stunden hatten die Körner überhaupt ihre Quellungsfähigkeit auch für Wasser verloren.

Die conc. Bromkaliumlösung verhinderte dies jedoch auch nach längerer Zeit nicht.

Ueberosmiumsäurelösung härtet die Chlorophyllkörper sofort und macht nicht nur die Structur des Stroma, sondern auch die Hüllhaut besser sichtbar, die letztere am besten bei den Körnern, welche in den Ecken der Zellen dichtgedrängt liegen. Man sieht hier, dass bei zwei benachbarten Körnern eine hyaline Haut um jedes Korn das Zusammentreten der beiderseitigen grün gefärbten Theile verhindert. Wo mehrere Körner zusammenliegen, ist zwischen ihnen auch noch körnig fixirtes Protoplasma zu erkennen. Die Ueberosmiumsäurelösung härtet die Chlorophyllkörper dermaassen, dass sie sich auch gegen spätere Einwirkung von Wasser immun verhalten; verdünnte Kalilauge jedoch bewirkt auch noch ein Quellen der mit Osmiumsäure behandelten Chromatophoren. Picrinsäurelösung fixirt die Chlorophyllkörner ebenfalls gut, und auch die mit ihr gehärteten Präparate werden bei späterer Einwirkung von Wasser nicht mehr verändert. Zum Nachweis der Plasmamembran ist sie jedoch nicht so geeignet, wie die Osmiumsäurelösung.

Legt man einen mit Aether entfetteten, nicht zu dünnen Schnitt der grünen Cotyledonen in conc. Schwefelsäure und bringt ihn sofort unter das Mikroskop, so sieht man noch die nur etwas gequollenen Chlorophyllkörner. Wäscht man dann, sobald die Zellmembran anfängt undeutlich zu werden, das Präparat schnell und gut mit Wasser aus und härtet mit Ueberosmiumsäurelösung, so ist das Gerüst noch gut zu erkennen, nur sind die einzelnen Balken, welche im intacten Korn ungefähr dieselbe Breite zeigen wie die Hohlräume, bis zur doppelten Breite aufgequollen.

Früher glaubte man allgemein, dass bei der Reifung der Samen mit dem Verschwinden des Farbstoffes auch das plasmatische Grundgerüst der Chlorophyllkörper aufgelöst würde, und dass diese dann beim Keimen der Samen aus dem Protoplasma, indem es sich um gewisse Bildungscentren orientire, neu gebildet würden. Dies ist jedoch nicht der Fall. Schon Schimper[1]) erwähnt, dass die in den Keimpflanzen sichtbaren Chlorophyllkörper bereits im ruhenden Samen vorhanden wären, ohne jedoch genaue Untersuchungsmethoden

1) Schimper, Ueber die Entwickelung der Chlorophyllkörner und Farbkörper. Bot. Ztg. 1883, p. 109.

zu ihrer Auffindung anzugeben. Ich habe nun eine grosse Anzahl von Samen, farbloser, gelber und grünlicher, zum Nachweis der Chromatophoren untersucht und dieselben überall gefunden. Allerdings sind dieselben meist nur sehr wenig gefärbt, so dass sie nur mit sehr starken Immersionslinsen und bei Anwendung von Reagentien zu erkennen waren. Fast immer sind die Zellen dermaassen mit Aleuronkörnern, Oel oder Stärke angefüllt, dass die Chromatophoren dadurch vollständig verdeckt werden. Allein bei eingehender Untersuchung war es mir immer möglich, deutlich geformte Chlorophyllkörner nachzuweisen. Ihre plasmatische Grundmasse schrumpft nur in dem trockenen Samen zusammen; doch erweisen sich bei Anwendung von Eiweissreagentien diese kleinen Gebilde immer als Proteïnkörper.

Untersucht man möglichst dünne Schnitte der reifen Samen von Lupinus in Oel, so werden keine einzelnen Chromatophoren sichtbar; die Palissaden- und Epidermiszellen jedoch umgeben als ein dunkelgelb erscheinender Rand die Cotyledonen. Legt man ein gleiches Präparat in dickes Glycerin, so wirken die in den Samen enthaltenen Oeltropfen dermaassen störend und geben ein so unklares Bild, dass man sich auch nicht von der Gegenwart dieser Körper überzeugen kann. Ich entfettete in Folge dessen erst die zarten Schnitte mit absolutem Alkohol und dann mit Aether; nach dieser Behandlung erwärmte ich sie gelinde, um jeglichen Aether zu verjagen und legte sie dann in dickes Glycerin. Jetzt erkannte ich deutlich wandständig und in den schmalen Plasmastreifen die eingeschrumpften Chlorophyllkörper; sie stellten meist längliche, seltener runde, nicht über 0,5 Mik. grosse, blasse, nicht glänzende, sondern matte Gebilde dar, an denen auch noch eine Structur zu erkennen war. Bei Zusatz von alkoholischer Jodlösung zum Glycerin färbten sie sich nicht gelb oder gar blau, sondern deutlich braun, wodurch ihre Proteïnnatur erwiesen war.

Härtet man zarte Schnitte mehrere Tage in conc. Picrinsäurelösung, in der sich aber noch ungelöste Krystalle befinden müssen, und untersucht dann dieselben in Oel oder Glycerin, ohne vorher die gelbe Farbe durch Auswaschen entfernt zu haben, so werden ebenfalls die kleinen Chromatophoren gut sichtbar. Da auch die Aleuronkörner und die schmalen Plasmastreifen von der Pikrinsäure gelb gefärbt sind, so heben sich diese kleinen Gebilde von den

Aleuronkörnern, denen sie auch aufgelagert sind, als gelbem Untergrunde mit ihren helleren und dunkleren Structurparthien gut ab.

Wäscht man ein mit Picrinsäure mehrere Tage gehärtetes Präparat sehr gut mit Wasser aus und färbt dann mit Hämatoxylin-Alaun, so nehmen die Chlorophyllkörper eine dunklere Farbe an als ihre Umgebung.

Bringt man nicht zu dünne Schnitte, welche man vorher mit absolutem Alkohol und Aether entfettet hatte, in conc. Schwefelsäure und untersucht, so findet man, dass sofort die Aleuronkörner gelöst werden. Wenn nach ganz kurzer Zeit, sobald die Zellmembran anfängt undeutlich zu werden, das Präparat schnell mit Wasser ausgewaschen, dann mit Ueberosmiumsäure gehärtet und mit Hämatoxylin-Alaun gefärbt wird, so ist das Aleuron vollständig weggelöst und die Chromatophoren sind, wenn auch gequollen, so doch als dunkler gefärbte Gebilde zu erkennen, in denen auch noch die einzelnen Parthien des Stroma zu unterscheiden sind.

Der Versuch durch Einlegen der Schnitte in äusserst verdünntes Kali, um das Aleuron wegzulösen, ein Grundnetz herzustellen, in welchem die Chromatophoren dann besser sichtbar werden würden, gelang nicht, da sich die Aleuronkörner in dem Kali wohl lösten, aber auch den ganzen Zellinhalt undurchsichtig und verschwommen erscheinen liessen.

Der Gehalt an Chlorophyllfarbstoff in den Cotyledonen von Lupinus während der einzelnen Reifungsstadien variirt sehr. Es enthalten nicht nur — wie natürlich — verschieden grosse, grüne Samen andere Mengen von Chlorophyll, sondern auch der Gehalt, procentisch auf aschefreie Trockensubstanz berechnet, ist nicht der nämliche. Um diesen wechselnden Gehalt genau zu bestimmen, theilte ich die Samen nach ihrer Grösse und ihrem Gewicht — ihren Entwickelungsstadien entsprechend — in sieben Abtheilungen.

Die Methode der Bestimmung ist die Tschirch's, deren sich auch Busch, Frank und andere bedient haben.[1])

---

1) Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft 1887, Seite 132, Pharm. Centralhalle 1889, 17. October und Tageblatt der Heidelberger Naturforscherversammlung 1889.

	Aeussere Farbe	Innere Farbe	Gewicht eines Samens	Durchmesser	Ein Samen enthält Chlorophyll	Procentgehalt für aschefreie Trockensubstanz
I	hyalingrün	grün	0,043	5,5 mm	0,00000408	0,1569
II	hellgrün	tiefgrün	0,218	9,5 mm	0,00001	0,0354
III	blaugrün	grün	0,3125	11 mm	0,0000417	0,0693
IV	Flecke beginnend	hellgrün	0,3245	12 mm	0,0000333	0,0394
V	Flecke dunkel	grüngelb	0,325	11,5 mm	0,000025	0,0223
VI	Fast reife Samen	fast reingelb	0,317	10,5 mm	0,00000467	0,0041
VII	Ganz reife Samen	gelb	0,149	7,5 mm	0,0000004762	0,00042

Um festzustellen, in welcher Menge das Chlorophyll in den Cotyledonen und in der Testa vertheilt war, bestimmte ich noch einmal den Gehalt daran in je zwanzig Samenschalen und Cotyledonen von II, IV und VI.

Wie viel Farbstoff vorhanden war, ergiebt nachfolgende Tabelle:

	Gehalt an Chlorophyll
Eine Testa des Samens II	0,000002717
Ein Paar Cotyledonen des Samens II	0,00000714
Gesammtmenge:	0,000009857
Eine Testa des Samens IV	0,0000005166
Ein Paar Cotyledonen des Samens IV	0,0000312500
Gesammtmenge:	0,0000317666
Eine Testa des Samens VI	—
Ein Paar Cotyledonen des Samens VI	0,000004235

Der absolute Gehalt an Chlorophyllfarbstoff nimmt also bis III constant zu, sinkt dann bei IV, fällt rapid bei VI und verschwindet fast ganz bei VII. Um überhaupt diese letzte kleine Menge bestimmen zu können, musste ich fünfzig Samen in Arbeit nehmen, während ich von I bis VI nur zehn nöthig hatte. Auf aschefreie Trockensubstanz berechnet, findet sich der grösste Procentgehalt an Chlorophyll in den Samen I, da diese am reichlichsten Wasser enthalten. In den übrigen Entwickelungsstadien weist auch hier III die reichlichste Menge Chlorophyll auf. Dieser wechselnde Gehalt an Chlorophyllfarbstoff entspricht nicht der Grösse der Chromatophoren in den einzelnen Samen. Dieselbe fand ich im Mittel (durch je zwanzig Messungen festgestellt) bei I = 3 Mik., bei II = 4,5 Mik., bei III = 6 Mik., bei IV = 6,5 Mik., bei V = 8 Mik., bei VI = 2 Mik. und bei VII = 0,5 Mik. Die absolut grösste

Menge an Chlorophyll besitzt also III, die grössten Chromatophoren hingegen V.

Der gelbe Farbstoff der Chromatophoren in den ganz reifen Samen ist nicht Etiolin, sondern Xanthophyll. Der Nachweis desselben gelang mir dadurch, dass ich den alkoholischen Farbstoffauszug der Samen VII mit Benzin schüttelte; dadurch ging das Chlorophyll in das Benzin über, während das Xanthophyll in der alkoholischen Lösung blieb. Diese letztere Flüssigkeit zeigte die für das Xanthophyll charakteristischen beiden breiten Bänder im Blau[1]) und die Absorption des Violett. Die kleine Menge Chlorophyll, welche auch noch in den ganz reifen Samen enthalten ist, genügt natürlich nicht, um von unserem Auge neben der reichlichen Menge Xanthophyll wahrgenommen zu werden. Hätte man bereits in früheren Jahren die reifen Samen spectralanalytisch auf Chlorophyll untersucht, so hätte man von ihrem, wenn auch nur in geringer Menge vorliegenden Gehalt daran, schon mit Sicherheit auf die Gegenwart der plasmatischen Grundmasse schliessen können, da doch der Chlorophyllfarbstoff mit Ausnahme der Cyanophyceen immer nur mit dem proteïnartigen Träger in den Pflanzen vorkommt.

Diese spectralanalytischen Untersuchungen wurden an Lösungen, die durch mehrfachen Auszug der Samen mit Alkohol erhalten waren, mit dem Apparat von A. Tschirch[2]) ausgeführt.

Nachdem ich die Existenz farbloser Chromatophoren in den Samen von Lupinus nachgewiesen hatte, untersuchte ich noch eine grosse Anzahl solcher von anderen Pflanzen und habe überall das plasmatische Grundgerüst noch auffinden und als Eiweissgebilde mit Jod nachweisen können. Bei Geranium, Linum, Helianthemum, Isatis und Lupinus hat sie bereits Schimper[3]) gesehen. Aeltere Forscher, u. a. Gaertner, nennen eine grosse Anzahl von Pflanzen, deren reife ruhende Samen noch eine grüne Farbe besitzen sollen. Ich habe nun gefunden, dass diese Angaben ungenau sind. Viele junge Embryonen allerdings, wie die von Lupinus, besitzen eine grüne Farbe und von ihnen behalten einige (u. a. Lepidium, Cacyle, Salsola, Geranium, Linum, Helianthemum, Acer, Isatis) dieselbe auch noch

1) Tschirch, Anatomie a. a. O., p. 58.
2) A. Tschirch, Archiv d. Pharm. 1884, S. 136 u. Anatomie S. 17.
3) A. a. O. p. 110.

im Reifestadium. Aber die grösste Anzahl dieser nimmt bereits nach einer Ruhe von zwei bis drei Monaten eine gelbe Farbe an und bei denjenigen Samen, welche noch die grüne Farbe bewahrt haben, ist sie auch immer in ein Grüngelb übergegangen. Ganz reingrün habe ich nie Samen nach einer mehrmonatlichen Ruheperiode gefunden. Am besten hatten Folgende das grüne Aussehen bewahrt: Pisum sativum (Markerbse), Acer, Cacyle, Isatis und Salsola und weniger gut Convolvulus. Die meisten aber, die Gaertner auch als grün aufführt, waren gelb oder farblos, so Linum, Salix, Polygala, Glycine, Viola, Phlox u. a. Aber in allen war noch das farblose, eingeschrumpfte plasmatische Grundgerüst der Chromatophoren vorhanden. Aus der grossen Anzahl der von mir untersuchten Samen werde ich nur einige hier näher besprechen mit Angabe der von mir bei den einzelnen zur Auffindung der Chromatophoren als gut befundenen Methoden.

Pisum sativum (sog. grüne Markerbse). Die Samenschale ist grünlichweiss; die Cotyledonen zeigen äusserlich eine grasgrüne, auf dem Querschnitt eine hellgrüne Farbe, welche in der Mitte fast in eine farblose übergeht. Die Zellen enthalten reichlich Stärke, gemischt mit kleinkörnigem Aleuron. Bei schwacher Vergrösserung scheinen die Aleuronkörner und die geringe Menge Protoplasma gelblichgrün gefärbt zu sein. Mit starken Immersionslinsen erkennt man jedoch, dass die Farbe kleinen (0,5—0,8 Mik. grossen) Chromatophoren zuzuschreiben ist, welche sich in den schmalen Plasmastreifen befinden und auch den Aleuronkörnern an- und aufliegen. Besser wie Schnittpräparate erwiesen sich Schabepräparate, da bei diesen der Zellinhalt herausfällt und so einzeln liegende Chromatophoren besser sichtbar werden. Legt man ein Schnittpräparat in conc. Bromkaliumlösung, so löst sich die grosskörnige Stärke vollkommen auf, während die Chromatophoren intact bleiben, welche jetzt sehr gut und deutlich mit gelblichgrüner Farbe zu erkennen sind. Als unzweckmässig erwies es sich, die gelöste Stärke auswaschen zu wollen, da hierbei auch die Chromatophoren zerstört wurden. Bei der gelben Erbse sind die Verhältnisse ganz die nämlichen, nur sind die Chromatophoren hier, weil von viel blasserer Farbe, schwieriger zu erkennen.

Robinia pseudacacia. Der Same ist fast farblos. Die Zellen sind vollkommen erfüllt mit Aleuronkörnern, enthalten aber

keine Stärke. Als Einlegungsmedium wandte ich conc. Bromkaliumlösung und dickes Glycerin an. Bei schwacher Vergrösserung umgiebt die Epidermis als etwas gefärbte Zone die einzelnen Cotyledonen, ohne dass es jedoch möglich wäre zu erkennen, wodurch die Farbe bedingt ist. Unter Anwendung stärkerer Objective ist es leicht, durch Färbung mit Hämatoxylin-Alaun, den Zellkern aufzufinden; die Chromatophoren zu erkennen, erwies sich jedoch als schwieriger. Stellt man das Mikroskop aber auf einen gut sichtbaren Plasmastreifen zwischen den Aleuronkörnern ein, so erscheint die Oberfläche der letzteren ganz gleichmässig; an ihnen jedoch, in den Plasmabändern, werden dann die Chromatophoren als dunklere matte Körperchen sichtbar. Bei etwas höherer Einstellung findet man sie dann auch dem Aleuron aufliegend, besser noch, wenn man conc. Picrinsäurelösung hinzutreten lässt, nicht um zu fixiren, sondern weil sich die Chromatophoren von der gelben Farbe sehr gut abheben. An Schabepräparaten in conc. Bromkaliumlösung findet man, dass sie eine rundliche oder ovale Gestalt besitzen. Ihre schwach graugelbliche Farbe und ihre grössere Menge in den äusseren Zellen erklärt den dunkleren Rand, als welcher letztere das innere Gewebe der Cotyledonen umgeben.

Cucurbita Pepo. Der Same ist fast weiss, mit einem äusserst geringen Ton von grünlich. Er enthält grosse Mengen fettes Oel und kleinkörniges Aleuron; Stärke ist nicht vorhanden. Die Chlorophyllkörper besitzen eine Grösse von 0,6—0,8 Mik. Man erkennt sie schon in dickem Glycerin mit Jod, besser noch in conc. Picrinsäurelösung.

Cacyle aquatilis. Der Same ist im Inneren von grünlichgelber Farbe. Die Zellen sind vollgepfropft mit Aleuron; Amylum fehlt. In conc. Bromkaliumlösung, in dickem Glycerin und auch in Ueberosmiumsäurelösung fand ich ohne viele Mühe die etwas länglich gestalteten Chromatophoren, an denen auch noch bei letzterem Reagens die dunkleren und helleren Parthien hervortraten. Die Körner zeigten im Durchschnitt eine Grösse von 0,5 Mik., aber auch eine geringere.

Acer crataegifolium. Der Embryo zeigt eine grünliche Farbe. Aleuron ist reichlich vorhanden, aber keine Stärke. Man erkennt die äusserst kleinen, nur 0,2—0,3 Mik. grossen Chromatophoren am besten in dickem Glycerin mit Jod.

Ipomoea splendens. Der Same ist im Inneren von gelblichweisser Farbe, er enthält kein Amylum, aber Aleuron und Oel. Letzteres, welches mit Aether sich sehr gut ausziehen lässt, ist gelb und deshalb wohl mit eine Ursache der Farbe des Embryo. Die Chromatophoren erkennt man in Pikrinsäure und auch in Oel, gut allerdings nur die wandständigen Körner in durch Flächenschnitten hergestellten Präparaten.

Pinus austriaca. Der Embryo in dem farblosen Endosperm ist gelblichweiss. Die Zellen enthalten Aleuron und sehr viel fettes Oel. Ich erkannte die Chromatophoren am besten in dickem Glycerin mit Jod. Sie zeigten eine Grösse von 0,4—0,6 Mik. und waren farblos und matt. Die helleren und dunkleren Parthien traten noch besser wie in Glycerin mit Jod in Ueberosmiumsäure mit Jod hervor.

Nachdem ich im Vorhergehenden durch meine Untersuchungen bewiesen habe, dass bei der Samenreife das Grundgerüst der Chlorophyllkörper nicht aufgelöst wird, halte ich es für zweckmässig, bevor ich auf ihre weitere Entwickelung bei der Keimung eingehe, die bis jetzt darüber vorliegenden Arbeiten zu besprechen. Ich glaube die Theorien, welche vor Mohl darüber Geltung besassen, unberücksichtigt lassen zu dürfen, da diese für die Gegenwart nur noch von historischem Interesse sind. Mohl und seine Nachfolger versuchten durch ihre Untersuchungen die Frage zu beantworten, ob Chlorophyllkörner aus Stärkekörnern entstehen, und ob dieselben auch aus einer Lagerung von Protoplasma um Stärke hervorgehen könnten. Dieser Forscher lässt es in seinen „Untersuchungen[1]) über die anatomischen Verhältnisse des Chlorophylls“ noch ungewiss, ob sich die Amylumkörner zuerst bilden, und die plasmatische Hülle des Chlorophyllkornes sich erst später um dieselben anlegt, oder ob der umgekehrte Vorgang stattfindet. In einer späteren Arbeit[2]) „über den anatomischen Bau des Chlorophylls“ betont er, dass meist das Amylum das prius sei, wenngleich eine Umwandlung der Stärke zu Chlorophyllkörpern nicht stattfände; um erstere sammele sich dann das Chlorophyll wie um einen Kern an. Es käme jedoch auch vor, dass das Chlorophyll das erste Product und die Stärke das zweite sei.

---

1) Vermischte Schriften 1837, p. 349.

2) Bot. Ztg. 1855, p. 115.

Im Gegensatz zu Mohl behauptete dann Böhm[1]), dass die Stärke direct in Chlorophyllkörper übergeführt würde.

Gris[2]) versuchte dann die Ansicht zu vertreten, dass die Chlorophyllkörper aus einer Protoplasmamasse hervorgingen, welche den Zellkern umgebe, die er deshalb als ein Product desselben betrachtet; in diesem Protoplasma entständen dann die Stärkekörner. Nach ihm ist also genetisch die grün gefärbte Grundmasse das primäre, das Amylum das secundäre. Dieser Theorie trat Sachs im Jahre 1862 entgegen,[3]) indem er behauptete, dass schon in dem ruhenden Samen eine gallertartige Auskleidung der Zellwand von Protoplasma vorhanden sei, welche bei der Keimung in einzelne Körner, die Chlorophyllkörner, zerfalle. In seiner Experimentalphysiologie[4]) erwähnt er dann noch, dass „ausnahmsweise früher farbloses Protoplasma sich um Stärkekörner herumlagert, sie einhüllt und dabei selbst ergrünt."

Hofmeister[5]) lässt ebenfalls die Chlorophyllkörner aus dem Protoplasma hervorgehen, indem er von einer Differenzirung desselben zu der ergrünenden Grundmasse von dem minder dichten, farblosen Zellplasma spricht. Später verfolgte dann Haberlandt[6]) die Entstehung der Chlorophyllkörper in den Cotyledonen der keimenden Bohne und gelangte zu der Ansicht, dass das Protoplasma ergrüne und sich um Stärkekörner lagere. Wenn sich dann nach einiger Zeit die Stärke gelöst habe, fänden sich ganz normal gebaute Chlorophyllkörner in der Zelle. Auch in seiner später erschienenen „Physiologischen Pflanzenanatomie" behauptet er, dass sehr wohl aus dem Protoplasma Chlorophyllkörner hervorgehen könnten, und dass es höchst merkwürdig wäre, wenn diese bei der Keimung der

---

1) Böhm, Sitzungsberichte der Kaiserl. Akad. der Wissenschaften zu Wien 1856, 22. Band, p. 492.

2) Recherches microscopiques sur la Chlorophylle. Ann. des sciences nat. 1857, VII, p. 179 ff.

3) Sachs, Uebersicht der Ergebnisse der neueren Untersuchungen über das Chlorophyll. Flora 1862, p. 136.

4) Julius Sachs, Handbuch der Experimental-Physiologie der Pflanzen. Leipzig 1865, p. 315.

5) Wilh. Hofmeister, Die Lehre von der Pflanzenzelle. Leipzig 1867, p. 364.

6) Haberlandt, Ueber die Enstehung der Chlorophyllkörper in den Keimblättern von Phaseolus vulg. Bot. Ztg. 1877, p. 361.

Samen durch die sich dabei vollziehenden, verschiedenen Stoffmetamorphosen nicht zerstört würden.

Ein Gleiches behauptete Mikosch[1]) indem er sagte: „die Chlorophyllkörper entstehen durch Umhüllung eines Stärkekornes mit grünem, resp. gelbem Plasma."

Alle diese Untersuchungsresultate sind nun in neuester Zeit bestritten worden. Zuerst behauptete Schmitz, freilich nur für die Chromatophoren der Algen, dass[2]) „eine Vermehrung dieser nur durch Theilung stattfände" und „zu der Annahme einer Neubildung, innerhalb der vegetativen Thallusabschnitte der Algen ein Anhalt nirgends vorläge."

Später behauptete dann Schimper das nämliche auch für alle chlorophyllkörperhaltigen Pflanzen. So sagt Schimper[3]): „Die Plastiden der Keimpflanzen sind schon im Samen vorhanden" und eine Entstehung von Chlorophyllkörnern durch Ergrünung des Zellplasmas um Stärkekörner findet nicht statt. In einer späteren ausführlicheren Arbeit[4]) aus dem Jahre 1885 wiederholte er diese Behauptung; er übergeht jedoch, in welcher Weise sich in den Cotyledonen die farblosen kleinen Gebilde des ruhenden Samens zu Chlorophyllkörpern umwandeln und durch Theilung vermehren.

Durch die Untersuchungen von Arthur Meyer[5]) wurden die Angaben Schimper's in den wesentlichsten Punkten bestätigt.

Eigene Beobachtungen.

Keimungsversuche mit Lupinus luteus.

Beim Keimen der Samen sind die Aleuronkörner bereits nach 24 Stunden fast vollkommen gelöst und indem sie sich dann, schon während die Wurzel heraustritt, mit dem Protoplasma mischen,

---

1) Mikosch, Untersuchungen über die Entstehung der Chlorophyllkörner. Sitzungsberichte des Kaiserl. Akad. der Wissenschaften Wien, Band LXXVIII, Abth. I, p. 287.

2) Fr. Schmitz, Die Chromatophoren der Algen. Bonn 1882, p. 105 u. 111.

3) A. F. W. Schimper, Ueber die Entwickelung der Chlorophyllkörner und Farbkörper. Bot. Ztg. 1883, p. 105.

4) A. F. W. Schimper, Untersuchungen über die Chlorophyllkörper und die ihnen homologen Gebilde. Pringsheim's Jahrbücher, Band XVI, p. 4.

5) Arthur Meyer, Das Chlorophyllkorn. Leipzig 1883, p. 71 u. ff.

nimmt der Zellinhalt wiederum die zähe Consistenz an, welche er vor dem Austrocknen des fast reifen Samens zeigte; es finden sich jedoch in ihm keine Vacuolen und kein centraler Saftraum. Früher als die Cotyledonen aus der Samenschale treten, nimmt auch der eingetrocknete Zellkern wiederum die Form an, welche er in dem unreifen Samen hatte. In dem Protoplasma finden sich eine Unmenge kleinster Körperchen, welche in Folge ihrer Menge als Gerinsel erscheinen. Da ich annahm, dass letzteres nicht normal, sondern ein pathologisches Product der Beobachtungsflüssigkeit, des Glycerins, sei, so versuchte ich in anderen Medien diese Zerstörung des Plasmaleibes zu vermeiden und in unangeschnittenen Zellen ein wahres Bild des letzteren zu erhalten. Aber sowohl in Oel, als auch in conc. Chlornatrium- und Bromkaliumlösung, gegen welche sich doch sonst der Zellinhalt immun verhält, und in conc. Picrinsäurelösung und in Ueberosmiumsäurelösung traten dieselben Erscheinungen zu Tage. Da aber Glycerin vor den anderen Reagentien den Vorzug hatte, das Bild klarer als diese erscheinen zu lassen, so kehrte ich wiederum zu ersterem als Untersuchungsmedium zurück.

Mit schwachen Linsen sah man an beiden Seiten die Epidermiszellen und an der Innenseite, der morphologischen Cotyledonoberseite, die Palissadenzellen citronengelb gefärbt. In den tieferen Zelllagen ging das Gelb in ein weissliches Gelb über, und in der Mitte war der Zellinhalt farblos. Bei dieser Vergrösserung war es jedoch nicht zu unterscheiden, ob das ganze Protoplasma gefärbt war, oder ob der Farbstoff von Körperchen getragen wurde; und auch das Gerinsel war zu deuten unmöglich. Mit starken homogenen Immersionslinsen erkannte ich jedoch in Zellen, die angeschnitten waren, und in Folge dessen einen Theil ihres Zellinhaltes verloren hatten, dass in den gelb erscheinenden Epidermis- und Palissadenzellen die Körperchen, welche das Gerinsel bildeten, die Träger der Farbe waren. Sie waren äusserst klein und zeigten die mannigfachste Gestalt; am häufigsten war die kleiner Stäbchen, welche theils gerade, theils etwas gekrümmt erschienen. Sie waren mitunter gleichmässig dick, mitunter aber an dem einen Ende stärker wie an dem anderen. Da es unzweifelhaft war, dass diese in den inneren Zellen freilich noch farblosen Gebilde in den äusseren Parthien die Träger der Farbe waren, aber trotzdem noch eine geringere Grösse besassen,

wie die eingeschrumpften Chromatophoren in den ruhenden Samen und auch keine Structur erkennen liessen, so suchte ich eingehend nach den intacten Formen und erkannte sie endlich auch in den Zellen von Samen, die sich in noch jüngeren Keimungsstadien befanden. Bei besonders günstigen Objecten gelang es mir denn auch, die Uebergangsformen zwischen dem Gerinsel und dem normalen Chromatophor in der nämlichen Zelle aufzufinden, so dass ich also die Entstehungsweise des ersteren und die Vermehrung der Chlorophyllkörper sicher festzustellen vermochte.

Bei der Keimung quellen zuerst die eingetrockneten Chromatophoren durch Wassereinlagerung auf, so dass sie wiederum ungefähr die gleiche Grösse wie in den reifenden Samen besitzen. Körner von dieser normalen Grösse ohne andere Veränderung an ihnen findet man jedoch sehr selten, da sie sogleich in Theilungsstadien übergehen. Der einfachste Modus der Theilung nimmt meist damit seinen Anfang, dass sich der Chromatophor etwas in die Länge streckt. Dann tritt ein Spalt in der Grundmasse des Chromatophors auf, und das umgebende Protoplasma dringt zugleich immer weiter vor. Dieser Spalt ist jedoch nicht keilförmig, sondern in seiner ganzen Länge fast gleich breit. Er dringt weiter vor und das Verbindungsstück wird immer dünner. Endlich zertrennt die Furche auch diesen schmalen Strang und führt so eine Zweitheilung herbei, durch welche zwei Tochterchromatophoren entstehen, die dann noch eine Zeitlang benachbart bleiben, bald jedoch durch das Protoplasma mehr oder weniger aus einander weichen und dann die Theilung wiederholen und zwar so schnell und weitgehend, dass aus dem ursprünglichen einen Chromatophor eine Anzahl kleiner hervorgegangen ist. Diese Art und Weise der Theilung ist jedoch die seltenere. Bei dem zweiten Modus tritt nicht nur ein Spalt auf, sondern zwei, drei und mehrere, welche von der Peripherie aus immer weiter in's Innere eindringen. So fand ich Chromatophoren, welche an der einen Seite noch vollkommen intact waren, an der anderen Seite jedoch schon zwei oder drei Einbuchtungen zeigten. Dieselben dringen jedoch nicht in der Weise in's Innere vor, dass sie alle das Centrum des Kornes erstreben, um sich dort zu vereinigen, sondern sie schneiden verschiedene Theile des Chromatophors ab. Die Furchen entstehen auch nicht alle zu gleicher Zeit und sind nicht sämmtlich gleichmässig tief, sondern während die einen bereits bis

zum Centrum des Kornes oder bis zur entgegengesetzten Seite vorgedrungen sind, erscheinen andere erst als kleine Einbuchtungen. Eben gebildete Tochterchromatophoren, die noch, ihrer Entstehung aus einem Korn entsprechend, zusammenliegen, zeigen deshalb auch meist schon wieder Spalten, die bereits in dem ursprünglichen grossen Chromatophor angelegt waren. Der zweite Modus der Theilung ist also sowohl ein simultaner als auch ein succedaner, mit schnell auf einander folgenden Entwickelungsstadien. Die Anzahl der so entstehenden Tochterchromatophoren ist eine ganz ungleiche; in einzelnen Fällen konnte ich mit Sicherheit constatiren, dass zehn bis zwölf, welche noch eine Gruppe bildend zusammenlagen, aus einem ursprünglichen Korn hervorgegangen waren. Auf diese Weise entsteht das dem Zellprotoplasma eingelagerte Gerinsel, für welches man, ohne seine Entwickelung verfolgt zu haben, gar keine Erklärung findet. So ist es aber auch klar, auf welche Weise die grosse Anzahl von Chlorophyllkörpern entsteht, welche bei etwas späteren Keimungsstadien in den Cotyledonen in viel bedeutenderer Menge als in den ruhenden Samen auftreten.

In diesem jungen Keimungsstadium ist in den noch nicht ergrünten Cotyledonen keine Stärke nachzuweisen, wohl aber in der jungen Wurzel und dem hypocotylen Gliede. In dem Maasse, wie die Wurzel an Länge zunimmt, nimmt der Gehalt an Amylum in ihr ab, da sie zum Aufbau der Zellwände verwandt wird. Diese Stärke ist aber noch kein Assimilationsproduct der jungen Pflanze, da dazu sowohl schon ein Ergrünen letzterer nothwendig wäre, als auch in erster Linie in ihren Keimblättern Amylum enthalten sein müsste.

Diese Stärke ist vielmehr ein Umsetzungsproduct des Oels, welches sich in dem ruhenden Samen findet und dessen Transmutation in Stärke und dann in Cellulose bei der Keimung stattfindet. Zugleich mit dem Oel werden auch die Wandverdickungen in den Cotyledonen, welche ebenfalls Reservematerial waren, wieder aufgelöst und den Vegetationspunkten zugeführt.

Am vierten Tage der Keimung. Die Cotyledonen treten eben über die Erde und werden von der Testa nur halb bedeckt. Sie haben dort, wo sie, von der Samenschale nicht mehr beschattet, der Einwirkung des Lichtes ausgesetzt sind, bereits eine grünliche Farbe angenommen. Auf dem Querschnitt erkannte ich dann schon ma-

kroskopisch, dass diese grünliche Farbe nur die äussersten Zellen zeigen; die darunter liegenden Parthien sind grünlichgelb, und die in der Mitte noch ganz farblos. Bei mikroskopischer Betrachtung fand ich wieder nur das Gerinsel, aber in den innersten Zelllagen farblos und so wirr durcheinander, dass ich kaum noch genetisch zusammengehörige, durch Theilung aus einem ursprünglichen Korn hervorgegangene Gruppen zu unterscheiden vermochte. In den der Epidermis näheren Zellen traten schon einzelne Körperchen durch ihre relative Grösse deutlich hervor. In den weiteren Parthien dann fand ich häufig die dem Innern der Cotyledonen zugewandte Hälfte einer Zelle noch farblos, während in der anderen die Körperchen schon deutliche Farbe zeigten. In der den Palissadenzellen angrenzenden Zelllage erschienen die Körperchen bereits grünlich und in den Palissadenzellen selbst traten sie dann schon als kleine, aber deutliche, grüne Chlorophyllkörper auf, die sich vielfach schon wandständig orientirt hatten.

Nach sechs Tagen zeigen die Cotyledonen bereits eine Länge von 12 mm und beginnen, da sie die Testa bereits abgestreift haben, sich auszubreiten. Die Innenfläche der ruhenden Samen von Lupinus ist mit zahlreichen kleinen Höckern versehen, die bei der Entfaltung der Keimblätter vollständig verschwinden. Dadurch bietet diese Seite, welche bei den ergrünenden Cotyledonen die morphologische Oberseite wird, dem Lichte eine möglichst grosse Oberfläche dar. Da sie ausserdem in ihren Palissadenzellen, wie ich bereits erwähnte, am reichlichsten Chromatophoren enthält, so ist es erklärlich, dass sie bereits dunkelgrün erscheint, wenn die Unterseite erst eine grünlichgelbe Farbe besitzt. In den Palissadenzellen bilden die Chlorophyllkörper einen dichten Wandbelag; in dem Schwammparenchym, welches viel weniger enthält, besitzt der Protoplasmaleib eine ähnliche Gestalt, wie in den reifenden grünen Samen. Die Chlorophyllkörper sind auch hier allseitig vom Protoplasma umschlossen, sie befinden sich sowohl in der Umgebung des Zellkernes, als auch in dem wandständigen Protoplasma und in den Plasmastreifen, welche die durch die Fortführung der Reservestoffe nach den Vegetationspunkten gebildeten Vacuolen durchziehen. In den Epidermiszellen, welche in den ruhenden Samen ebensoviel Chromatophoren enthielten, wie die Palissadenzellen, finden sich jetzt nur noch wenige und von geringerer Tiefe der Farbe. Jetzt

da die Epidermiszellen belichtet werden, verhalten sie sich also gleich wie die der Laubblätter.

Am fünfzehnten Tage der Keimung. Die Cotyledonen sind bereits 16 mm lang. Die Oberseite ist dunkelgrün, die Unterseite grün. Die Primordialblätter ragen bereits 11 mm über die Keimblätter vor. Die Zellen sind fast vollständig von Reservestoffen entleert; der Zellinhalt wird dadurch klarer und in Folge dessen auch die Chlorophyllkörper zum Studium ihrer Natur und ihrer Einschlüsse zugänglicher. Die erstere tritt jetzt ziemlich deutlich hervor, besser allerdings noch bei Einwirkung von Ueberosmiumsäurelösung. Das Balkengerüst ist gut sichtbar und auch die Hohlräume erscheinen niemals gleichmässig rund, sondern lassen stets, am besten bei verschieden hoher Einstellung des Mikroskopes, ihre verschieden gestaltete Form erkennen. Wasser wirkt stark auf die Chlorophyllkörper ein, schon wenn sie wenige Minuten darin liegen, sind die Balken bedeutend gequollen, aber ohne sich in einzelne Stücke zu trennen; nach weiterer Zeit entstehen einzelne blasenartige Vacuolen, welche aber bald zergehen und dadurch die ganze Masse des Chlorophyllkornes homogen erscheinen lassen. Später erscheint dann der ganze Zellinhalt gleichmässig grün gefärbt. Gegen die übrigen Reagentien verhalten sich die Chlorophyllkörper ebenso wie die in den grünen Cotyledonen der unreifen Samen, deren Verhalten ich oben angegeben habe.

Dass die Cotyledonen nicht nur Reservestoffbehälter sind, sondern für die Pflanzen, welche epigare Keimblätter entwickeln, auch Assimilationsorgane, geht daraus hervor, dass in den ergrünten Chlorophyllkörpern schon früh Stärke auftritt. Und die Keimblätter haben wohl überall dort noch diese zweite Function, wo die von der Mutterpflanze mitgegebenen Reservestoffe nicht in der Menge vorhanden sind, wie es für eine kräftige Entwickelung der Tochterpflanze nothwendig wäre. Und wenn die assimilatorische Function wirklich eine nebensächliche für die Keimblätter wäre, dann ist nicht einzusehen, weshalb bereits in den Samen die Cotyledonen mit Palissadenzellen ausgerüstet sind. Diese Zellform ist doch so vorzüglich geeignet, die Chlorophyllkörper dem Lichte möglichst zugänglich und dadurch für die Assimilation geeigneter zu machen. Ausserdem wachsen die Cotyledonen bereits in den jüngsten Stadien der Keimung ausserordentlich schnell und bieten dadurch den Licht-

strahlen eine grosse Oberfläche dar, bevor noch die Primordialblätter entwickelt sind. Die Keimblätter von Lupinus enthalten aber nicht nur Palissadenzellen, sondern sie sind überhaupt morphologisch den Laubblättern ähnlich gestaltet, also bilateral gebaut, so dass sie auch die Function derselben vollständig zu erfüllen im Stande sind. Die Cotyledonen haben Spaltöffnungen wie diese und unterhalb der Palissadenzelllage liegen rundliche, durch Luftlücken getrennte Parenchymzellen, das Mesophyll. Die Stärkeeinschlüsse in den Chromatophoren sind freilich immer so klein, dass sie nicht genügen, um nach Entfärbung durch Alkohol mit Jod die Blaufärbung eintreten zu lassen, aber nach dem Quellen durch Kali ist das Amylum immer nachzuweisen. Ausser durch den Nachweis der Stärke mit Jod konnte ich die Assimilation noch durch die Sauerstoffausscheidung constatiren, wenn ich die grünen Cotyledonen unter einem Cylinder mit Wasser dem Sonnenlicht aussetzte. In Folge der Zersetzung der Kohlensäure entwickelte sich bald Sauerstoff, welcher in Form kleiner Bläschen an die Oberfläche stieg.

Wenn dann später die Reservestoffe aus den Cotyledonen vollständig gelöst und weggeführt sind, und die Zellen nur noch wenig wandständiges Protoplasma und viel Zellsaft enthalten, finden sich in ihnen immer noch die wohlerhaltenen Chromatophoren. In diesem Zustande verharren die Cotyledonen noch lange, auch wenn die Pflanzen bereits eine Höhe von 25 cm erreicht haben. Erst kurz vor der Blüthe beginnen sie basipetal und nicht gleichmässig einzuschrumpfen und eine bräunliche Färbung anzunehmen, bis sie endlich vollständig welk und bräunlichgrau abfallen. Aber auch jetzt noch finden sich in den Zellen die gelblich gefärbten Chlorophyllkörper, theilweise jedoch mehrere zu Ballen vereinigt, innerhalb einer dünnen Schicht wandständigen Protoplasma. Die Zellen enthalten dann keinen Zellsaft mehr, und ihre Membranen sind stark gefaltet und verzerrt. Eine geringe Menge Protoplasma und das plasmatische Grundgerüst der Chlorophyllkörper wird also nicht aufgelöst und der Pflanze wieder zugeführt, sondern geht derselben beim Abfallen der Cotyledonen verloren.

Bei der Keimung von Lupinus luteus bei geringer Lichtintensität, im Halbdunkel, wie es in der Ecke eines Zimmers herrscht, treten, was die Ergrünung und Vermehrung der Chlorophyllkörper anbetrifft, dieselben Erscheinungen ein wie im directen Tageslicht,

nur wurde in ihnen keine Stärke gebildet, trotz einer Temperatur von durchschnittlich 20° C. In Folge dessen blieben die jungen Pflanzen anfangs in ihrer Entwickelung um fünf bis sechs Tage gegen die im vollen Lichte befindlichen zurück. Nachdem die Reservestoffe jedoch verbraucht waren, hörte das Wachsen vollständig auf, und die jungen Pflanzen gingen ein, nachdem sie eben erst die Primordialblätter entwickelt hatten. Daher erklärt sich auch die grosse Schwierigkeit in den dunklen und kurzen Tagen des Winters auch bei genügender Wärme schon ziemlich entwickelte Pflanzen am Leben zu erhalten. So gingen Lupinen, welche Anfangs September gesät waren, im November, trotzdem sie bereits eine Höhe von 16 cm erreicht hatten, zu Grunde.

Um die Entwickelung der Keimblätter im Dunkeln zu verfolgen, säte ich eine grosse Zahl von Samen in Töpfe aus und stellte diese in einen Raum, wo absolute Dunkelheit herrschte. Die Chromatophoren entwickelten sich auch hier in der nämlichen Weise wie bei den belichteten Pflanzen; jedoch fand die Theilung und das Wachsen der jungen Chromatophoren viel langsamer statt. Ihre endliche Grösse war geringer als die der normal entwickelten, auch erzeugten sie kein Chlorophyll, sondern nahmen eine gelbe Farbe an. In der Dunkelheit liess ich die Pflänzchen so lange, bis sämmtliche Reservestoffe aus den Cotyledonen gelöst und weggeführt waren, und sie in Folge dessen aufhörten weiter zu wachsen. Zu dieser Zeit waren die Cotyledonen ausgebreitet, und die Primordialblätter 16—20 mm lang, das hypocotile Glied war 9—10 cm hoch. Diese etiolirten Keimpflanzen theilte ich in zwei Gruppen. Die eine liess ich im Dunkeln, wo sie noch kurze Zeit erhalten blieben; sie bestanden nur aus Zellmembran, wenig Protoplasma und Wasser. Die Chromatophoren waren wandständig und enthielten nicht die geringste Menge von Stärke. Ihr Stroma zeigte nach dem Entfärben mit Alkohol dieselben Eiweissreactionen wie das des normalen Chlorophyllkörpers. Wenn sie auch kleiner waren wie diese, so liessen sie doch nicht minder gut die Structur erkennen. Die andere Gruppe stellte ich in's Sonnenlicht, um bei dem successiven Ergrünen die Entwickelung und Zunahme an Chlorophyll und das Auftreten von Stärke zu verfolgen. Die Gestalt der Chlorophyllkörper wurde durch das Ergrünen nicht verändert. Als sie nach vier Tagen vollständig ergrünt waren, hatten sie aber trotzdem noch

keine Stärke entwickelt; erst nach neuntägiger Belichtung, als bereits ein zweites Laubblattpaar sich zu entwickeln begann, war dieselbe in ihnen nachzuweisen. Zur Bestimmung der successiven Zunahme des Chlorophylls legte ich immer nach einer Belichtung von vier Stunden die Cotyledonen von je fünf Pflänzchen, nachdem ich ihr Gewicht bestimmt hatte, in Alkohol, um den Farbstoff zu extrahiren. Da während der Zeit des Ergrünens keine Assimilation stattfand, so blieb das aschefreie Trockengewicht constant, ich fand es gleich 13,54 % des Nassgewichtes. Nach einer Belichtung von 32 Stunden während vier Tagen hatten die Cotyledonen eine normale dunkelgrüne Farbe angenommen; die Zunahme des Chlorophylls war jedoch nicht eine gleichmässige, sondern eine beschleunigte. In welcher Weise sie steigt geht aus folgender Tabelle hervor:

Bestimmung nach Tschirch's Methode.

No.	Zeit der Belichtung in Stunden	Gewicht von ein Paar Cotyledonen	Ein Paar Cotyledonen enthalten Chlorophyll	Procentgehalt für aschefreie Trockensubstanz
0	=	0,437	=	=
I	4	0,429	0,0000022	0,0038
II	8	0,417	0,0000051	0,00991
III	12	0,398	0,0000087	0,0164
IV	16	0,404	0,0000131	0,0238
V	20	0,442	0,0000177	0,0300
VI	24	0,411	0,0000234	0,0427
VII	28	0,408	0,0000289	0,0528
VIII	32	0,435	0,0000364	0,0617

Dass in den letzten zweimal vier Stunden die Zunahme nicht mehr eine beschleunigte ist, erklärt sich dadurch, dass am letzten Tage des Versuches das Wetter weniger klar war wie an den vorhergehenden.

Versuche mit Pisum sativum.

Mit Pisum stellte ich zwei verschiedene Versuche an. Für den ersten säte ich die Samen in die Erde, für den zweiten liess ich die Samen über der Erde keimen und stellte sie in's Sonnenlicht.

Bei dem ersten Versuche waren nach zwei Tagen die Aleuronkörner schon ganz gelöst und in der trüben Plasmamasse lagen die

Stärkekörner, die minder deutlich sichtbaren Zellkerne und noch wohlerhaltene, farblose, durch Wassereinlagerung etwas gequollene Chromatophoren. Ausser diesen intacten Körnern waren aber auch andere vorhanden, welche schon Einbuchtungen zeigten und solche, die sich bereits in kleine Körperchen getheilt hatten, die auch hier in ihrer Gesammtheit als Gerinsel erschienen. Die kleinen Chromatophoren lagen mehrfach dermaassen zu Gruppen vereinigt, wie sie durch Theilung aus einem ursprünglichen grossen Korn entstanden waren. Einige von diesen zeigten auch schon wieder Furchen, welche, weiter vordringend, die Tochterkörner in noch kleinere Chromatophoren theilten. Da die Stärke aber ziemlich gross war, erhielt ich selten so gute Bilder, dass ich schon in Glycerin den Vorgang gut erkennen konnte. Ich fand es deshalb ganz zweckmässig, das Object in conc. Bromkaliumlösung zu legen, in der sich die Stärke vollkommen löst, ohne dass die Chromatophoren zerstört werden. Dann brachte ich einen Tropfen wässerige Fuchsinlösung an's Object, liess dasselbe $^1/_2$ Stunde darin liegen und wusch dann mit conc. Bromkaliumlösung gut aus. Nur die Chromatophoren und die kleinen Körperchen des Gerinsels waren zurückgeblieben, die Stärke war vollständig durch das Auswaschen entfernt. Die Chromatophoren waren durch das Fuchsin schön roth gefärbt; ich konnte sie dadurch besser erkennen und auch ihren Charakter als Eiweissgebilde feststellen.

In den folgenden Entwickelungsstadien schritt die Theilung noch weiter fort; die Theilkörner wuchsen wieder zu grösseren heran und hatten nach fünfzehn Tagen, als auch bereits die Stärkekörner durch Abschmelzen ziemlich klein geworden waren, eine Grösse von 2—3 Mik. erreicht. Sie waren wandständig und lagen auch im Plasma im Innern der Zelle.

Auch die Epidermis enthielt Chromatophoren, aber bedeutend weniger wie die Zelllagen darunter, in denen sie sich sehr reichlich fanden. In den innersten Zellparthien, die auch schon makroskopisch fast farblos erschienen, waren sehr wenige zu finden. Alle besassen eine hellgelbe Farbe und liessen auch trotz ihrer Kleinheit hellere und dunklere Parthien erkennen. Nach drei Wochen war die Stärke vollkommen gelöst und neben dem wenigen Protoplasma sah ich noch wandständig die Chromatophoren. Weitere Beobachtungen konnte ich leider nicht machen, da bereits jetzt die Cotyledonen in Fäulniss übergingen.

Bei den Keimungsversuchen von Pisum sativum über der Erde entwickelten sich die Chlorophyllkörper in der nämlichen Weise wie unter der Erde im Dunkeln. Die Cotyledonen ergrünten nicht, auch die gelbe Farbe blieb nicht so dunkel wie im reifen Samen, sondern sie erschien mehr hyalingelblich. Auch als nach drei Wochen die Stärke ganz gelöst war und in den Keimblättern in dem wandständigen Protoplasma die Chlorophyllkörner vorzüglich zu erkennen waren, bewahrten diese trotzdem ihre gelbe Farbe und wurden nicht grün, obgleich sie sonst ganz normal gebaut waren. Nach dem Extrahiren der Cotyledonen mit Alkohol war die Form der Chlorophyllkörper in ihnen noch gut zu erkennen, aber auch nach Behandlung mit Kali und Essigsäure war mit Jod keine Stärke in ihnen nachzuweisen, ebensowenig wie der Zellinhalt welche enthielt.

Sechs Wochen nach der Aussaat begannen die Keimblätter einzuschrumpfen; sie waren aber noch nicht ganz trocken. Die Chromatophoren zeigten noch ihre gelbe Farbe; ihre Grundmasse aber fing bereits an zusammenzufliessen, die meisten Körner jedoch waren noch wohlerhalten.

Am 52. Tage waren die Cotyledonen vollständig vertrocknet und begannen abzufallen. Die Zellen waren vollständig leer, nur fanden sich in ihnen noch die zu Ballen zusammengeflossenen Chromatophoren, die aber trotzdem ihre gelbe Farbe nicht verloren hatten. In jeder Zelle fanden sich drei bis vier solcher Ballen, neben welchen häufig noch einige einzelne Chromatophoren lagen. An der einen Seite waren letztere mitunter schon mit dem Ballen zusammengeflossen, an der anderen zeigten sie noch ihre deutliche Contur.

Bei der grünen Erbse (der sog. Markerbse) verläuft der Entwickelungsprocess der Cotyledonen und Chromatophoren sowohl bei den Versuchen über der Erde wie unter der Erde, wie ich sie eben für die gelbe Art geschildert habe. Bei der Keimung bewahren sie nicht eine so grüne Farbe wie im ruhenden Samen; das Grün erscheint vielmehr makroskopisch als ein helleres in Folge der Quellung. Unter dem Mikroskop sieht man aber, dass die Chromatophoren ebenso wie im ruhenden Samen die Farbe bewahrt haben, und dass sie nur durch den trüben Zellinhalt etwas verdeckt wird. Ihre Farbe macht die Anwendung von Reagentien und Färbemitteln überflüssig, da man sie auch ohne diese schon erkennen und ihre Theilungen verfolgen kann. Aber obgleich sie in späteren Stadien wieder

zu normalen Chlorophyllkörpern heranwachsen und auch wie diese gebildet sind, assimiliren sie nicht, sie erzeugen keine Stärke. Bei dem späteren Vertrocknen, bei den Kulturen über der Erde im Sonnenlicht, flossen ebenfalls die einzelnen Chlorophyllkörper zu grösseren Massen zusammen und verloren die grösste Menge ihres Chlorophylls, so dass sie dann freilich nicht rein gelb, aber doch nur sehr schwach grünlichgelb erschienen. Den stickstoffhaltigen grünen Bestandtheil des Rohchlorophylls nimmt also die Pflanze wieder in sich auf, während sie das Xanthophyll und das plasmatische Grundgerüst nicht mehr verwerthet und verloren gehen lässt.

Wahrscheinlich ganz das nämliche wie ich hat auch Mikosch[1]) beobachtet, nur hat er das Gesehene anders gedeutet. Auch er ist wie alle früheren Forscher der Meinung, dass in den Cotyledonen der Erbse die Chlorophyllkörper dadurch entstehen, dass sich ein einfaches Stärkekorn mit einer gefärbten Plasmahülle umgiebt. Mikosch hat augenscheinlich die kleinen Körperchen im Protoplasma nur für Mikrosomen dieses gehalten, da er nicht beobachtet hatte, dass sie durch Theilung aus ursprünglich schon vorhandenen Chlorophyllkörpern hervorgegangen waren. Und da er sie Farbe annehmen sah, kam er zu der irrthümlichen Meinung, dass die Chlorophyllkörper aus dem Protoplasma hervorgingen, welches die Stärkekörner von allen Seiten umgebe.

Versuche mit Pinus austriaca.

Da wie bekannt die Coniferenkeimlinge auch im Dunkeln ergrünen, so brachte ich Samen von Pinus austriaca bei einer Temperatur von 15—18° C. zur Keimung, um auch bei dieser Pflanze die Entwickelung der Chromatophoren bei Abschluss von Licht zu verfolgen. In den ruhenden Samen sind sie in dickem Glycerin oder in Ueberosmiumsäure mit Jod leicht nachzuweisen. Schon wenige Tage nach der Aussaat, wenn eben die junge Wurzel aus den Samen tritt, haben das hypocotyle Glied und die Keimblättchen, welche noch in dem Endosperm des Samens stecken, eine grünliche Farbe angenommen; doch ist es unmöglich in diesem Keimungsstadium eine Untersuchung der Entwickelung der Chlorophyllkörper auszuführen, da alle Zellen mit Oeltropfen und in Lösung begriffenen

1) a. a. O. p. 271.

Aleuronkörnern dermaassen erfüllt sind, dass in Folge dieses trüben Zellinhaltes, welcher sich auch nicht mit Reagentien klärte, die Präparate keine klaren Bilder lieferten. Aber nach ungefähr 16 bis 18 Tagen war der Zellinhalt schon bedeutend durchsichtiger geworden und ich fand in ihm Chlorophyllkörner in den verschiedensten Theilungsstadien mit deutlich grüner Farbe. In den Zellparthien unter der Epidermis waren sie schon vollständig ausgebildet und wandständig, in den weiter innen gelegenen Zellen war die Entwickelung noch nicht so weit vorgeschritten. Die Theilung ging auch hier in der Weise vor sich, dass ein oder mehrere Furchen in das Korn eindrangen, welche dann, wenn auch der letzte schmale Verbindungsstreifen durchschnitten war, ein Chlorophyllkorn in mehrere Theilkörner zerlegte, die häufig noch so zusammenlagen, wie sie aus dem ursprünglichen grossen Korn entstanden waren. Nach ungefähr 25 bis 26 Tagen waren auch die Chlorophyllkörper in den inneren Parthien vollkommen normal ausgebildet, sie lagen wandständig und auch in den Plasmasträngen; sie hatten eine Durchschnittsgrösse von 5 bis 6 Mik. In dem hypocotylen Gliede lagen fast gar keine Chlorophyllkörper im Innern der Zellen, sondern sie waren wandständig und von länglicher Form. Bei diesen Keimungsversuchen mit Pinus austriaca machte ich die eigenthümliche Beobachtung, dass einige Pflänzchen nicht ergrünten, sondern (drei unter einundvierzig) etiolirten. Ihre Farbe war aber keine reingelbe, sondern hatte einen schwachen Schein von grünlich. Die Chlorophyllkörper in ihnen waren aber auch ganz normal entwickelt.

Zur Untersuchung der Chromatophoren von Pinus austriaca lässt sich Wasser absolut garnicht verwenden, denn wenn ich auch gefunden habe, dass das Grundgerüst aller in den von mir untersuchten Pflanzen sehr empfindlich dagegen ist, so wird das Stroma der Chlorophyllkörner von Pinus doch fast momentan zerstört, ebenso schnell wie die Aleuronkörner. Das Ergrünen im Dunkeln erstreckt sich auch nur auf die Keimblätter, denn in den weiteren Entwickelungsstadien waren alle Primordialblätter, sowohl der wenigen etiolirten Pflänzchen als auch der mit grünen Keimblättern, nicht grün, sondern gelb. Sowohl die Chromatophoren der ergrünten als auch der etiolirten Pflänzchen enthielten bei diesen Kulturen bei Lichtabschluss niemals Stärke, und sie gingen in Folge dessen nach einiger Zeit zu Grunde, als sie ihr Reservematerial verbraucht hatten.

Nach den eben mitgetheilten Untersuchungen lassen sich bezüglich der Entwickelung der Chlorophyllkörper in den reifenden und keimenden Samen folgende Punkte feststellen:

1. Die Chlorophyllkörper lösen sich bei der Reife des Samens nicht in dem Protoplasma auf, sondern schrumpfen und trocknen nur etwas ein und sind von den vorhandenen Reservestoffen dermaassen verdeckt und eingepresst, dass sie nur schwierig aufzufinden sind.
2. Bei der Keimung quellen die Chlorophyllkörper wieder auf und vermehren sich dann sofort durch eine meist unregelmässige Vieltheilung, so dass die Zellen mit kleinen, gerinselartigen Körperchen erfüllt sind, welche man früher für Mikrosomen des Plasma hielt und die die Veranlassung waren, dass man die Entstehung der Chlorophyllkörper einem Ergrünen des Protoplasma zuschrieb.
3. In den etiolirten Keimblättern entwickeln sich die Chromatophoren wie in den belichteten Keimpflanzen, nur sind sie hier etwas kleiner.
4. Die Keimblätter der Pflanzen mit epigaeen Cotyledonen sind nicht nur Reservestoffbehälter, sondern auch Assimilationsorgane, da ihre Chlorophyllkörper Stärke bilden. Dieselbe entwickelt sich aber nicht im Dunkeln, auch nicht im diffusen, sondern nur im directen Sonnenlicht, während der Chlorophyllfarbstoff, wie allgemein bekannt, zwar nur im Tageslicht, aber auch im diffusen entsteht.

2. Zur Verständigung über die Structur der Chlorophyllkörper.[1])

Die erste Ansicht über die Structur des Stroma der Chlorophyllkörper hat wohl Rosanoff in einer nicht veröffentlichten Arbeit ausgesprochen, der, wie Hofmeister in seiner Lehre von der Pflanzenzelle[2]) angiebt, bei der Untersuchung der Chlorophyllkörper von Bryopsis plumosa eine feine Areolenzeichnung constatirt haben

1) Ich habe darauf verzichtet Abbildungen beizugeben, da dieselben sich doch im Wesentlichen mit den Bildern Tschirch's gedeckt hätten.

2) Hofmeister, Die Lehre von der Pflanzenzelle, 1867, p. 369.

will, welche, wie er sich ausdrückt „auf der Flächenansicht als Gitterung, auf der Durchschnittsansicht als radiale Streifung sich darstellt."

Von hervorragender Bedeutung war jedoch erst die Arbeit von Mohl über dieselben Körper aus dem Jahre 1837[1]), in welcher er seine Ansicht über deren Organisation dahin aussprach, dass die Chlorophyllkörper aus einer farblosen, mit Jod sich gelb färbenden, in Aether und Alkohol unlöslichen, die Form der Chlorophyllkörner bestimmenden und einer in Alkohol und Aether löslichen Substanz von grüner Farbe gebildet würden. Mohl's Forschungen richteten sich in erster Linie gegen die von Sprengel aufgestellte Hypothese, dass die Chlorophyllkörner Bläschen darstellten. Diese Theorie, welche unter Anderen auch Nägeli[2]) vertheidigte, bekämpfte Mohl erneut 1855.

Die Bläschentheorie Nägeli's, welche ja, soweit sie die Natur und Structur der Chlorophyllkörper betrifft, heute als überholt betrachtet werden muss, ist doch auch jetzt noch nicht — wie im späteren Theil näher ausgeführt werden wird — ohne Bedeutung für den Beweis einer Hyaloplasmamembran um die Chlorophyllkörper.

Auf Grund der Arbeiten Mohl's und gestützt auf eigene Forschungen stellte dann Sachs den Satz auf, dass „das Chlorophyllkorn aus einer Grundmasse von gallert- bis schleimartiger Consistenz bestände, die ihren chemischen Eigenschaften nach eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Protoplasma habe, dass der grüne Farbstoff in dieser Substanz in ausnehmend geringer Menge eingelagert und von ihr durch seine chemische Beschaffenheit und seine Löslichkeit in Lösungsmitteln verschieden sei, dass endlich in der Grundmasse des Chlorophylls gewöhnlich Stärkekörner, zuweilen Oeltröpfchen entständen, deren genetisches Verhältniss zum Chlorophyllfarbstoff noch nachzuweisen sei." Dieses also schon durch Sachs und dann von Briosi[3]) constatirte Auftreten von Oeltröpfchen in den Chlorophyllkörpern ist dann, wie wir später sehen werden,

---

1) Mohl, H. von, Untersuchungen über die anatomischen Verhältnisse des Chlorophylls. Tübingen 1837. Vermischte Schriften. Tübingen 1845, p. 349.

2) Nägeli, C. von, Bläschenförmige Gebilde im Inhalt der Pflanzenzelle. Zeitschrift für wissenschaftliche Botanik von M. J. Schleiden u. C. Nägeli 1846.

3) Giovanni Briosi, Ueber normale Bildung von fettartiger Substanz im Chlorophyll. Bot. Ztg. 1873, p. 532.

die Veranlassung gewesen, dass einige Forscher die Grana-Theorie aufstellten.

Wenn nun auch diese und eine zweite Arbeit von Sachs aus dem Jahre 1863,[1]) welche auf sorgfältigen, mikrochemischen Untersuchungen mit Alkohol entfärbter Chlorophyllkörper basirt, bewies, dass das Stroma derselben ein organisirtes Gebilde ist, so war doch immer noch nicht die Frage über die Structur der Chlorophyllkörper entschieden, und auch die sonst so vorzüglichen Studien dieses Forschers ergaben nichts, was die Frage zu entscheiden geeignet wäre, und in welcher Weise der Farbstoff in dem farblosen Stroma vertheilt sei.

Lange Zeit ruhten dann die speciellen Untersuchungen auf diesem Gebiet, bis 1879 Pringsheim durch seine Publicationen über „Lichtwirkung und Chlorophyllfunction in der Pflanze“[2]) das Interesse der Anatomen diesem Studium von Neuem zuwandte. Dann folgten in den letzten Jahren Arbeiten von Frommann, Arthur Meyer, Schimper, Tschirch, Schmitz und Frank Schwarz, welche zwar unsere Kenntniss über die Structur der Chlorophyllkörper erheblich erweiterten, aber auch so viel verschiedene Ansichten in die Welt setzten, wie Forscher sich mit diesem Gegenstande beschäftigt hatten. Jeder derselben hat eine andere Ansicht geäussert wie seine Vorgänger. Ich beabsichtigte deshalb Untersuchungen darüber anzustellen, ob die Meinungsdifferenzen auf verschiedenen Beobachtungen oder nur auf verschiedenen Deutungen des Beobachteten beruhten. Zu dem Ende habe ich mir sämmtliche Objecte verschafft, mit denen die seitherigen Beobachter arbeiteten, und habe sie genau unter den gleichen Bedingungen studirt, die gleichen Systeme benutzt und dieselben Reagentien die vorgeschriebene Zeit einwirken lassen, kurz die Untersuchungsbedingungen streng innegehalten. Die durch Anwendung von Reagentien erhaltenen Präparate habe ich stets mit denen von normalen Chlorophyllkörpern in Oel als Einlegeflüssigkeit verglichen. Die Beobachtungsresultate habe ich bezüglich ihrer Deutung einer völlig objectiven Prüfung unterzogen und dann durch eigene Beobachtung erweitert. Ich ge-

1) Sachs, Beiträge zur Physiologie des Chlorophylls. Flora 1863, p. 195.

2) Pringsheim's Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Band 12, p. 280 ff.

langte dabei zu der Ueberzeugung, dass die zuerst von Pringsheim aufgestellte und dann von Tschirch bestätigte Ansicht, dass nämlich die Grundmasse der Chlorophyllkörper aus einem balkenartigen Schwammgerüst bestehe, und dass der Chlorophyllfarbstoff dessen Maschen mehr oder weniger erfülle, die richtige sei; und dass die Structur-Theorien der anderen Autoren theils auf falschen Beobachtungen, meist aber auf unrichtigen Deutungen beruhten. Im Gegensatz zu Pringsheim vertrete ich jedoch die Meinung, dass man auch schon in Oel als Medium ohne Anwendung von Reagentien und ohne besondere Behandlungsweisen an den meisten Chlorophyllkörpern — mehr oder weniger gut — die Schwammstructur erkennen kann, und dass diese normalen Bilder des Schwammgerüstes nicht denen gleich sind, welche man nach den von Pringsheim vorgeschlagenen Behandlungsweisen erhält, und dass nur die Structur als die normale zu betrachten ist, welche man an durch Reagentien nicht veränderten Chlorophyllkörpern erkennt.

Pringsheim verwarf die Methode der früheren Forscher, welche, um die plasmatische Grundmasse der Chlorophyllkörper für mikrochemische Untersuchungen geeigneter zu machen, diese mit Lösungsmitteln, meist Alkohol, entfärbt hatten. Er gelangte zu demselben Ziele durch Anwendung verschiedener Behandlungsweisen, mit deren Ergebniss er dann zu beweisen versuchte, dass die Grundmasse der Chlorophyllkörper ein schwammartiges Gerüst — das Stroma — darstelle, welches im normalen Korn von der grünen Farbstofflösung durchtränkt sei. Die von ihm befolgten Untersuchungsmethoden waren folgende:

1. Einwirkung feuchter Wärme (durch Erwärmen der Gewebe in Wasser von höherer Temperatur oder in den Dämpfen von siedendem Wasser).
2. Behandlung mit Salzsäure. Zur Anwendung gelangte eine Säure, welche durch Verdünnen der conc. Säure mit dem vierfachen Volumen Wasser erhalten wurde, also, da die conc. Säure meist 25procentig ist, 5 % Chlorwasserstoffgas enthielt.
3. Einwirkung von feuchter Wärme und Salzsäure.
4. Einwirkung des directen Sonnenlichtes.

Ueber das Ergebniss dieser Reactionen sagt Pringsheim dann,[1]) „dass je nach der Behandlung eine partielle oder eine vollständige Trennung des soliden Gerüstes der Chlorophyllkörper von ihren weichen oder flüssigen und farbigen Bestandtheilen erreicht werde, die letztere bei combinirter Einwirkung von Wärme und verdünnter Säure, namentlich Salzsäure. Indem er dann auf diese Reaction der combinirten Einwirkung von Wärme und Säure übergeht, fährt er fort:[2]) „Man findet dann den gesammten Farbstoff, welchen die Zelle in ihren Chlorophyllkörpern enthielt, noch innerhalb der Zelle selbst vor, und zwar zu gesonderten grösseren oder kleineren Tropfen angesammelt, die neben den Gerüsten des Chlorophyllkörpers, aus denen sie hinausgetreten sind, liegen bleiben. Wenn dieses Trennungsverfahren vorsichtig und richtig geleitet wird, dann bleibt die Grundsubstanz der Chlorophyllkörper ebenso intact und unter denselben Formen wie bei der Entfärbung der Chlorophyllkörper durch Lösungsmittel zurück. Die entfärbte Grundsubstanz der Chlorophyllkörper zeigt nach dieser Behandlung eine Differenzirung und Anordnung ihrer Substanz, welche eine bemerkenswerthe, allen Chlorophyllkörpern, überhaupt allen Chlorophyllmassen gemeinsame Structur verräth. Sie besteht aus einem balkenartigen Gerüste oder Gitterwerke von dichterer Substanz, dessen Zwischenräume oder Maschen vor der Erwärmung und vor der Behandlung mit verdünnten Säuren von dem weichen, halbflüssigen oder flüssigen Träger des Farbstoffes erfüllt und durchtränkt waren."

Als Pflanze, von deren Chlorophyllkörpern man dies so beschriebene Balkengerüst gut erhalten könne, nennt Pringsheim Vallisneria spiralis, deren Gewebe er sechs Tage der Einwirkung von Salzsäure und dann acht Stunden dem Dampfe von siedendem Wasser aussetzte. Die Beschreibung des Präparates, welches man nach solcher Behandlung erhält und auch die Abbildung, welche Pringsheim giebt, sind im Grossen und Ganzen richtig und zutreffend, nur habe ich bei meinen ebenso dargestellten Präparaten selten die Höhlungen von so runder Form gefunden, wie sie Pringsheim abbildet, meist war die Länge bedeutender als die Breite. Wo sie aber nahezu gleich lang und breit waren, zeigten die Maschenräume nie eine kreisrunde Form. Ausser Vallisneria spiralis unterzog ich

1) a. a. O. p. 220.
2) a. a. O. p. 290.

noch das Gewebe von Lunularia vulgaris und Polypodium aureum der combinirten Einwirkung von Salzsäure und Dampf. Erstere Pflanze besitzt grosse Chlorophyllkörper, welche zu fünf bis zehn in einer Zelle liegen. Da der Thallus sehr dünn ist, so kann man einen vollständig unverletzten Theil desselben auf den Objectträger bringen, ohne wie bei Schnitten befürchten zu müssen, dass die Einlegeflüssigkeit die Chlorophyllkörper verändere. Bei ihnen waren die Balken des Gerüstes sehr gut zu erkennen und auch zu beobachten, dass die dunkleren Parthien, die mit Farbstoff erfüllten Maschenräume, nicht rund waren, sondern die verschiedenste Gestalt hatten. Nach der Behandlung mit Salzsäure und Dampf waren die Chromatophoren entfärbt; ihr Stroma zeigte aber auch jetzt noch die Form eines von Höhlungen durchsetzten Gebildes. Die Balken waren mehr gequollen wie bei Vallisneria, und das ganze Korn erschien verzerrt. Dass die Höhlungen keine sog. „grana", wie Arthur Meyer meint, waren, ging aus diesen Bildern noch deutlicher hervor wie aus denen des intacten Kornes; sie erschienen als deutlich unregelmässige, nicht längliche Lücken, aus denen der Farbstoff herausgetreten war. Die Balken lagen nicht vereinzelt als Fibrillen, wie Frank Schwarz wähnt, neben einander, sondern sie bildeten ein zusammenhängendes Netz.

Die Chlorophyllkörper von Polypodium aureum liegen in den Zellen dicht gedrängt. Um zuerst ihre natürliche Form zu erfahren, legte ich das Gewebe in Ueberosmiumsäurelösung. Auch bei ihnen trat die Structur gut hervor, und vorzüglich zu erkennen war die Hüllhaut um jedes Korn, welches die grün gefärbten Theile noch von einander trennte. Nach der Einwirkung der Salzsäure und des Dampfes zeigten sich wiederum ähnliche Bilder wie bei den früheren Objecten. In den Chlorophyllkörpern des frischen Gewebes vermochte ich nach Entfärbung mit Alcohol deutlich einen Stärkegehalt nachzuweisen, aber trotzdem hatten sie nach der Einwirkung der hohen feuchten Wärme ihre äusseren Umrisse bewahrt und waren nicht zu halbmondförmigen Stücken zerborsten. Die Balken des Gerüstes waren ja etwas gequollen, aber ich konnte doch noch gut dieselbe Form wiedererkennen, die ich im intacten Zustande beobachtet hatte. Der Farbstoff war vollständig herausgetreten und befand sich in Form einzelner Tropfen an der Peripherie der Körner. Die Balken vermochte ich an einzelnen besonders guten Objecten, in's

Innere des Kornes zu verfolgen und an anderen Stellen wieder auftreten zu sehen. Zwischen ihnen erwiesen sich die dunkleren Parthien des natürlichen Kornes als ganz verschieden geformte und gekrümmte Hohlräume, die ebenso wie die Balken mit einander in Zusammenhang standen. Dass dies Schwammgerüst nicht nur an der Oberfläche der Chlorophyllkörper vorhanden war, sondern auch das ganze Korn erfüllte, erschien mir nach den vorliegenden Bildern als ganz gewiss.

Pringsheim fährt dann in seiner Beschreibung der Einwirkung der feuchten Wärme, wie folgt, fort: „Die Chlorophyllkörper erscheinen nun je nach der Höhe der angewandten Temperatur und nach der Dauer der Einwirkung mehr oder weniger wie Hohlkörper. War die Temperatur für den Stärkegehalt der untersuchten Chlorophyllkörper nicht zu hoch, so behalten sie ihre individuelle Form bei; sie erscheinen aber in ihrer Masse differenzirt, d. h. ihre Substanz erscheint aus abwechselnd dichteren oder weniger dichten Parthien gebildet, die so angeordnet sind, dass das Ganze den Eindruck eines netzartigen Gerüstes oder hohlen Balkennetzes macht. War die Temperatur aber zu hoch, so bestehen sie nur noch aus den zerrissenen Schalenstücken des ursprünglichen Kornes (Taf. XXV, Fig. 3, 6, 9).“ Die citirten Figuren sind nach Präparaten von Vallisneria und Mnium gezeichnet; das Gewebe ersterer Pflanze war eine Stunde dem Dampf von siedendem Wasser ausgesetzt, das letzterer fünf Minuten in Wasser gekocht. Kocht man es länger, so werden die Chromatophoren vollkommen zerstört und von einer Structur ist nichts mehr zu erkennen. Diese Bilder entsprechen noch mehr den Ergebnissen meiner Untersuchungen wie die erst erwähnte Zeichnung (auf Pringsheim's Taf. XXV, Fig. 1), da hier schon einzelne Hohlräume länglich gezeichnet sind, wie auch ich sie beobachtet habe, besser wie bei Vallisneria allerdings noch bei Elodea canadensis und Plectogyne variegata. Das Gewebe ersterer Pflanze hing während einer Stunde im Dampf. Durch die Einwirkung der feuchten Wärme ist der Farbstoff als Tropfen an den Rand des Kornes getreten, und die entfärbten Maschen erscheinen als hellere, nicht runde, sondern längliche, theilweise sogar schlitzförmige Lücken, welche von den etwas gequollenen Balken begrenzt

1) a. a. O. p. 293.

sind. Sie sind vielfach gewunden und an den verschiedensten Stellen konnte ich erkennen, wie sie einestheils mit einander Anastomosen bildeten, und anderentheils wiederum ihre Vereinigung durch zwischen ihnen liegende Balken gehindert wurde. Dass die Lücken keine Körnchen, keine sogen. „grana“ sind, ist bei den Präparaten von Elodea ganz klar, denn wenn auch das Balkengerüst durch die feuchte Wärme etwas verändert erscheint, so könnten doch niemals an den Stellen, wo im frischen Chlorophyllkörper einer homogenen Grundmasse eingebettete „Körner“ liegen sollen, nach der Dampfbehandlung unregelmässige Lücken, welche, sich vielfach windend, in's Innere vordringen, vorhanden sein. Auch die Balken waren immer als ein zusammenhängendes Gerüst zu erkennen und erschienen nicht, wie Frank Schwarz behauptet, als Fibrillen. Sie anastomosirten immer und lagen nicht nebeneinander, und sie differenzirten sich auch nicht, trotz der Wassereinlagerung, in zwei verschiedene Körper, die sich durch verschiedene Quellung und partielle Löslichkeit von einander unterscheiden, sondern stellten immer ein einheitliches Gebilde dar.

Die Chlorophyllkörper von Vallisneria spiralis enthalten reichlich Stärke als Einschluss und zwar in so bedeutender Menge, dass man die einzelnen Körner auch im unentfärbten Chlorophyllkorn schon deutlich erkennen kann. Auch ich bin der Meinung wie Pringsheim[1]), dass diese Stärkeeinschlüsse, durch die hohe feuchte Temperatur gequollen, die Veranlassung zur „Sprengung des Chlorophyllkornes und der Zerstörung seiner Form“ sind. Pringsheim äussert seine Ansicht nicht darüber, weshalb bei seinem ersten Präparat von dieser Pflanze halbmondförmige Gebilde entstanden sind, bei dem zweiten aber nicht. Es dürfte unschwer der Grund zu finden sein. Die Einwirkung der Salzsäure während der sechs Tage auf das Chlorophyllkorn hat das Stroma fixirt, so dass bei dem nachfolgenden Erwärmen die quellende Stärke das Gerüst nicht mehr zu sprengen vermochte; denn wenn auch verdünnte Salzsäure bei nicht zu langer Einwirkung dem Stroma die Quellbarkeit in Wasser nicht raubt, so wirkt doch eine solche Säure, wie sie hier zur Anwendung kam, härtend auf die Proteïnkörper. — Taf. XXV, Fig. 13 u. 14 stellen Präparate von Selaginella dar, welche Pringsheim erhalten haben

1) a. a. O. p. 291.

will, nachdem das Gewebe eine Stunde im Dampf von siedendem Wasser gehangen hatte. Ich habe ein solches Bild bei gleicher Behandlung nicht erhalten; sondern erst, wenn ich es eine reichliche Stunde im Wasser kochte. Bei der Pringsheim'schen Reaction quollen die Balken nur etwas, während das ganze Gerüst nicht undeutlicher wurde, sondern im Gegentheil die Structur besser erkennen liess. Die Zellen der Blattunterseite von Selaginella enthalten nur wenige aber grosse Chlorophyllkörper, die zum Structurstudium ausserordentlich geeignet sind. Auch ist das Blattgewebe so dünn, dass man die Körner, auch ohne Schnitte zu machen, deutlich erkennen kann. Ausser dem hier ganz besonders gut sichtbaren Balkengerüst war es mir noch möglich zu erkennen, dass auch die Hohlräume in das Innere des Kornes verliefen und nicht Farbstoffkörner waren, die nur der Grundmasse eingebettet waren. Die vollständige Tropfenausscheidung aus den Chlorophyllkörpern trat nicht bei dem Hängen des Gewebes in Dampf ein, sondern erst nach dem Kochen in siedendem Wasser. Nach einer Viertelstunde begann die grüne Farbe in eine gelbgrüne überzugehen und nach ungefähr 35 Minuten nahm das Gewebe eine braungrüne Farbe an, welche nach abermals einer halben Stunde rein hellbraun erschien. Das Bild, welches die Chlorophyllkörper jetzt boten, war ein anderes wie das, welches ich im normalen Gewebe von ihnen kannte. Die plasmatischen Balken waren stark gequollen und theilweise zusammengeflossen, so dass nach dem Kochen weniger zu sein schienen wie vorher, und es war mir jetzt auch nicht möglich zu entscheiden, ob dies netzige Gebilde nur der äussere Theil des Kornes oder auch im Innern vorhanden war. Hängt das Gewebe nur eine Stunde im Dampf, so sind die Balken nur wenig gequollen und man kann an einzelnen von ihnen noch ihr Eindringen in's Innere des Kornes verfolgen und die zwischen ihnen befindlichen Lücken als zusammenhängende Maschenräume wahrnehmen.

Ausser den von Pringsheim angegebenen Objecten unterzog ich noch Chlorophyllkörper aus dem Gewebe anderer Pflanzen der von diesem Forscher angegebenen Behandlungsweise. Bei Plectogyne ist es ein bedeutender Unterschied, ob man das Gewebe der Blätter kocht, oder nur dem Dampfe des siedenden Wassers aussetzt. Im ersteren Falle nimmt es schon nach kurzer Zeit eine braungraue, dann braune Farbe an, und die Chlorophyllkörper findet man dann

bei der Untersuchung vollständig zerstört. Im Dampfe bewahren diese Blätter viel länger ihre grüne und dann ihre bräunlichgrüne Farbe. Unter dem Mikroskop findet man den Farbstoff an den Rand des Kornes getreten, und das Stroma hat noch eine graugrünliche Farbe bewahrt. Die Hohlräume, welche vorher von dem Farbstoff erfüllt waren, erscheinen jetzt als mehr oder weniger längliche, hellere Lücken, welche von dem zusammengequollenen Balkengerüst eingeschlossen werden. Die Stärkeeinschlüsse haben eine Dehnung und auch eine Sprengung des Kornes bewirkt. Einen Beweis dafür, dass die Chlorophyllkörper der verschiedenen Pflanzen sich Reagentien gegenüber durchaus nicht gleich verhalten, liefert Phajus grandifolius und Pteris serrulata. Kocht man das Gewebe ersterer, so wird es sofort braun, hängt man es aber in den Dampf siedenden Wassers, so wird es erst nach zehn Minuten braun und nach zwanzig Minuten sind die Chlorophyllkörper bis auf ganz desorganisirte Massen vollständig zerstört. Behandelt man jedoch auf die gleiche Weise die Blätter von Pteris serrulata, so bewahren diese dennoch, trotz des Kochens in siedendem Wasser, ihre grüne Farbe eine halbe Stunde lang, und dieselbe ist auch nach einer Stunde noch nicht braun, sondern nur graugrün. Die Chlorophyllkörper sind dann auch noch nicht vollkommen zerstört, sondern nur mehr oder weniger gequollen und theilweise entfärbt, so dass man noch sehr wohl die natürliche Farbe an ihnen wiedererkennen kann. Auch bei ihnen treten dann die im normalen Korn dunkleren Parthien nicht als sogen. „grana", sondern als Lücken auf, welche jetzt durch die feuchte Wärme vom Farbstoff entleert sind, und die, die einzelnen Balken trennend, das Stroma als ein mit verschieden gestalteten Maschen versehenes Netz erscheinen lassen.

Ueber die Erfolge der Untersuchungen, welche Pringsheim durch Einwirkung von Salzsäure ohne Anwendung feuchter Wärme erhielt, berichtet er, dass an den mit Salzsäure behandelten Geweben keine andere auffallende Erscheinung als ihre plötzliche Farbenänderung bemerkbar war, und dass die Chlorophyllkörper selbst — abgesehen von dem Farbenwechsel — keine wesentliche Veränderung weder in ihrer Form noch in ihrer Structur zeigten. Als untersuchtes Object nennt er unter anderen auch Vallisneria spiralis, für die er auch die Zeichnung eines frischen Chlorophyllkornes aus dem Mesophyll des Blattes beigiebt (Taf. XVI, Fig. 6). Das Bild dieses

Kornes ist richtig für Oel als Medium. Untersucht man jedoch in 1 % Ueberosmiumsäurelösung, so sieht man auch bei diesem frischen Material die Structur gut hervortreten. Das Gerüst wird gut erkennbar und beseitigt sofort die Annahme, dass es von einer gleichmässigen, weichen, grünen Substanz gebildet würde. Legt man das Gewebe von Vallisneria in Salzsäure, so tritt die Structur nicht besonders hervor, nicht besser wie in Oel; in dem Maasse jedoch, wie der Farbstoff austritt, und wie das Korn immer mehr entfärbt wird, erscheint sie deutlicher. Das farblose Stroma zeigt jetzt Lücken und Höhlungen der verschiedensten Form, in denen sich vorher der Farbstoff befand. Bei Pteris serrulata, bei der im normalen Chlorophyllkorn die helleren und dunkleren Parthien gut zu erkennen sind, wird die Structur nach längerer Einwirkung von Salzsäure weniger gut sichtbar; man sieht dann nur noch die dunkleren Stellen, die aber bei weitem nicht so scharf hervortreten, wie vorher. Es beruht dies vielleicht darauf, dass die Säure in diesem Falle den Farbstoff im ganzen Gerüst vertheilt hat, denn wenn man dann mit Alkohol entfärbt, so zeigt das vollständig farblose Stroma wiederum deutlich die Maschen zwischen dem Balkengerüst, welche als verschieden gestaltete Hohlräume zu erkennen sind, und ebensowenig wie die Balken Fibrillen sind, erscheinen die Lücken als die Knotenpunkte derselben, wie sie Frank Schwarz ebenfalls bei Einwirkung von Salzsäure deuten zu müssen geglaubt hat. Wenn sie Knotenpunkte wären, so müssten sie doch ein Theil der Balken sein, das sind sie aber nicht, sondern die Räume zwischen diesen.

Nachdem Pringsheim dann das Hypochlorin abgehandelt hat, kommt er noch einmal auf die Structurverhältnisse der Chlorophyllkörper zurück.[1])

„Der Umstand, dass die verschiedenen Behandlungsweisen, durch Wärme, durch Salzsäure, durch Lösungsmittel, durch Licht ganz ohne Einfluss auf die Erscheinung sind, zeigt offenbar, dass in dem Bau der entfärbten Chlorophyllkörper sich die normale Structur und Organisation derselben im natürlichen Zustande ausdrückt." „Man erhält an guten Präparaten und in den Fällen, in welchen die Zeichnung am schönsten erscheint, den bestimmten Eindruck eines von Höhlen durchsetzten Gebildes von gleichsam siebförmiger Structur;

1) a. a. O. p. 312.

und an der Peripherie der erwärmten oder mit Salzsäure behandelten Chlorophyllkörper lässt sich fast regelmässig hier und dort direct wahrnehmen, dass die austretenden grünen Tropfen und die rostbraunen Massen noch hier und da in diese Höhlen oder Lücken der porösen Substanz hineinragen, und dass sie aus diesen wie aus den Maschen eines Netzes hervorgetreten sind.

Die feste Grundsubstanz der Chlorophyllkörper, die ihre Form bestimmt, bildet daher ein schwammförmiges Gerüste, welches im normalen Zustande von dem ölartigflüssigen Träger des Farbstoffes und dem Hypochlorin durchtränkt ist. In den Fällen, in welchen bereits feste secundäre Einlagerungen, z. B. Stärkekörner, im Chlorophyllkorn auftreten, kann man sich durch geeignete Färbungsmittel noch überzeugen, dass das schwammförmige Gerüste nur den peripherischen Theil des Gebildes ausmacht, dass, mit anderen Worten, die Chlorophyllkörper eigentlich Hohlkörper mit netzartig durchbrochener Hülle darstellen, in deren Innerem die secundären Bildungsproducte als fremdartige Einschlüsse abgelagert werden."

Die Abbildungen, die Pringsheim hierzu giebt, sind den Beobachtungen entsprechend. Ob die Chromatophoren aber Hohlkörper sind oder nicht, war mir nicht möglich definitiv zu entscheiden; jedenfalls aber habe ich häufig die einzelnen Balken des Gerüstes in dem Innern des Kornes verschwinden und dann wieder auftauchen sehen, was dafür spricht, dass das Gerüst das ganze Korn erfüllt. Dass natürlich die Chlorophyllkörper, welche Stärke enthalten, ausser dem Schwammgerüst und dessen Lücken in ihrem Inneren noch einen Raum besitzen müssen, in welchem diese secundären Producte lagern, dürfte klar sein, und dass in diesem Sinne die Chlorophyllkörper als Hohlkörper zu betrachten sind, bestreite ich nicht. Ich bin aber nicht wie Pringsheim zu der Annahme gelangt, dass die so erhaltenen Gerüste vollständig dieselben sind wie die, welche das normale Korn in Oel als Medium zeigt. Es ist nicht zu leugnen, dass diese Präparate — und das gilt auch für die übrigen von Pringsheim erhaltenen Bilder — durch pathologische Eingriffe, welche ein Quellen des Gerüstes und das dadurch bedingte Herauspressen des Farbstoffes verursachten, entstanden sind; ein normales Korn stellen sie nicht dar. Nichtsdestoweniger sind sie jedoch sehr geeignet, uns der wahren Auffassung über die Structur der Chlorophyllkörper näher zu bringen.

Fast zu gleicher Zeit mit Pringsheim's Veröffentlichungen erschien eine Arbeit von Frommann, in der dieser eine ganz andere Ansicht über die Structur der Chlorophyllkörper vertritt[1]) wie ersterer Forscher. Nach ihm zeigen dieselben „eine Differenzirung ihrer Substanz theils zu einzelnen, gefärbten Körnchen und kurzen und feinen nur theilweise unter einander und mit den letzteren zusammenhängenden, ebenfalls gefärbten Fäden, theils zu gefärbten geschlossenen Netzen. Die Maschen sind theils rund oder oval, theils rechteckig oder quadratisch, bilden ein zierliches Gitterwerk von stromaartigem Aussehen und wie innerhalb der Protoplasmanetze finden sich auch hier in Netzen mit gleichmässig engen Maschen einzelne Maschen eingestreut, die sich durch ihre grössere Weite und durch die derbere Beschaffenheit und den stärkeren Glanz ihrer Septa vor den übrigen auszeichnen. Im Innern mancher Chlorophyllkörper finden sich vereinzelt oder zu mehreren theils derbere Knotenpunkte, theils derbere, stärker glänzende, die ersteren zum Theil oder ganz durchsetzende, geradlinig oder etwas bogenförmig verlaufende, glatte oder gekörnte Fäden, die bald nachweislich mit anderen feineren benachbarten sich am Verschluss der unmittelbar angrenzenden Maschen betheiligen, bald nicht. Wo mehrere dieser dickeren, längeren Fäden vorhanden sind, verlaufen dieselben ziemlich dicht neben einander, von einem Pol zum anderen, oder sie sind unregelmässig vertheilt und nach verschiedenen Richtungen hin orientirt, oder sie strahlen radienartig von den centralen Parthien nach der Peripherie aus und in allen Fällen können einzelne derselben noch über die letztere hinausgreifen und sich in die anstossenden ungefärbten Netze einsenken."

Vorstehende Angaben macht Frommann über die Chlorophyllkörper von Rhododendron ponticum, ähnlich sind auch die, welche er über die Chromatophoren von Dracaena Draco und Aloë arborescens giebt. Wer sie gelesen hat und das von Frommann benutzte Material einer kritischen Durchforschung unterzog, wird finden, dass seine Ansichten über die Structur der Chlorophyllkörper ziemlich confus ausgedrückt sind und ihnen weder eine richtige Beobachtung zu Grunde liegt, noch dieselben den beigegebenen sehr schematischen Zeichnungen entsprechen.

1) Dr. C. Frommann, Beobachtungen über Structur und Bewegungserscheinungen des Protoplasma der Pflanzenzellen. Jena 1880, p. 6.

Nach Frommann käme also den Chlorophyllkörpern eine Netzstructur zu mit grüngefärbten Fäden, und die Knoten dieses Netzes wären die dunkleren Punkte, welche bei der Beobachtung sichtbar werden. Mir war es sowohl bei Rhododendron als auch Dracaena und Aloë ebensowenig möglich solche mit Knoten versehene fadenförmige Gebilde zu beobachten, wie ich auch einzelne solcher Fäden, wie es Frommann am Schlusse des Citates angiebt, über die Peripherie der Chlorophyllkörper hinaus, mit farblosen Fäden des umgebenden Protoplasma in Verbindung stehend, nicht habe sehen können.

Schon an und für sich sind die Chlorophyllkörper von Rhododendron zur Untersuchung der Structur kein gutes Material, da sie wegen ihrer Kleinheit dieselben nur schlecht erkennen lassen. Bei den wenigen günstigen Präparaten jedoch, welche ich erhielt, zeigte sich die Structur auch hier als ein Schwammgerüst, ebenso bei Dracaena und Aloë. Eine farblose Grundsubstanz mit grüngefärbten Fäden fand ich niemals. Als ich diesen Chlorophyllkörpern mit absolutem Alkohol das Oel und den Farbstoff entzogen hatte und dann mit Haematoxylin-Alaun das plasmatische Gerüst wieder färbte, traten die Balken und die dunkleren Höhlungen besser hervor, und letztere konnten auch jetzt nicht mehr mit den Oeltropfen verwechselt werden, welche im normalen Korn sehr störten. Namentlich bei Aloë traten diese so deutlich hervor, dass man wohl zu der falschen Annahme von Knotenpunkten, wie Frommann meint, oder von „grana“, wie Meyer sagt, gelangen konnte. Wenn ich aber schon im normalen Chlorophyllkorn keine Fibrillen zu erkennen vermochte — so sehr ich mich auch befleissigte solche aufzufinden, um allen Ansichten gerecht zu werden —, so kam ich doch bei diesen mit Haematoxylin gefärbten Präparaten erst recht zu der Ueberzeugung, dass solche Gebilde nicht vorlagen, sondern dass auch hier ein helleres Balkennetz die Grundmasse darstellt, in dessen Maschen sich der grüne Farbstoff befindet. Als ich das Gewebe von Dracaena und Aloë nach der Pringsheim'schen Methode in den Dampf siedenden Wassers hing, wurde ersteres bereits nach fünfzehn Minuten braun, während das von Aloë länger eine grünlichgelbe Farbe bewahrte. Die Chlorophyllkörper von Dracaena waren in Folge ihres Stärkegehaltes gesprengt; ihre Schalenreste liessen aber auch noch die Form eines von Höhlungen durchsetzten Balken-

netzes erkennen. Die von Aloë waren zwar nicht geborsten, aber das Gerüst erschien in Folge der starken Quellung und des Oelgehaltes und dadurch, dass der Farbstoff nicht vollständig herausgetreten war, sehr undeutlich und liess seine einzelnen Formen nicht gut erkennen.

Die Chlorophyllkörper von Rhododendron sind wie die von Dracaena und Aloë sehr empfindlich gegen Wasser; ich untersuchte sie deshalb — Frommann giebt kein Reagens an — in einprocentiger Ueberosmiumsäurelösung. So ungeeignet sich die Chromatophoren dieser Pflanzen nun auch für die Structurstudien erwiesen hatten, als ein so vortreffliches Material erkannte ich sie zum Nachweis des hyalinen Plasmahäutchens. Dasselbe war überall gleich gut und mit derselben Deutlichkeit sichtbar; eine optische Täuschung ist vollkommen ausgeschlossen. Wie aber bereits erwähnt, eine Organisation und Structur wie sie Frommann angiebt, zeigen auch diese Chromatophoren nicht.

Eine wesentlich verschiedene Ansicht von der Structur der Chlorophyllkörper (seinen Autoplasten) hat Arthur Meyer in seiner Monographie über das Chlorophyllkorn[1]) dargelegt. Er sucht in derselben zu beweisen, dass das Chlorophyllkorn aus einer Grundmasse besteht, welcher dunkelgrüne „grana“ (also Körper von Kugelform) eingebettet sind und leugnet zweitens die Existenz eines hyalinen Plasmahäutchens um die Chlorophyllkörper.

Er giebt seiner Meinung folgendermaassen Ausdruck:[2]) „Es lässt sich an dem lebenden Autoplasten, wenn er völlig unverletzt ist, eine eigenthümliche Structur erkennen, die den Eindruck macht, als seien in eine mehr oder weniger farblose Grundmasse und von dieser überall umschlossen, dunkelgrüne Körner oder Kugeln eingelagert.“ „Es[3]) war mir nicht möglich, mit aller Schärfe die Frage zu entscheiden, ob die Masse, in welche die Körner eingelagert sind, völlig farblos oder nur sehr hellgrün ist. Es wäre die Klärung dieses Punktes von Wichtigkeit, weil im Falle der Farb-

---

1) A. Meyer, Das Chlorophyllkorn in chemischer, morphologischer und biologischer Beziehung. Leipzig 1883.

2) a. a. O. S. 23.

3) a. a. O. S. 24.

losigkeit der Grundmasse die Auffassung gerechtfertigt erschiene, dass die grünen Körner, welche wir der Kürze halber „grana“ nennen wollen, aus unserem Chlorophyll beständen, und dass in der übrigen Masse des Autoplasten dies nicht weiter vorkäme.“

Als Object, bei dem die „grana“-Einlagerung am besten zu erkennen wäre, nennt Meyer Acanthephippium silhetense. Trotz aller Mühe konnte ich diese Orchidee jedoch nirgends erhalten, und so war ich genöthigt, meine Untersuchungen an den anderen Pflanzen, welche Meyer ebenfalls als gute Objecte für das „grana“-Studium nennt, unter Anwendung der von ihm selbst empfohlenen Reagentien, vorzunehmen. Meyer will bei dem in Wasser liegenden Gewebe von Phajus grandifolius ein Aufquellen der „grana“ beobachtet haben. Mir ist dies ebensowenig gelungen zu beobachten wie Schimper. Freilich findet ein Quellen der Chlorophyllkörper in Wasser statt, doch geht dies niemals von den sog. „granis,“ sondern von dem Stroma aus, wie man sich bei fast allen Chlorophyllkörpern überzeugen kann, mit am besten bei denen von Phajus, die meist schon durch den Zellsaft auf dem Messer zerstört werden. Zur Untersuchung dieser Chromatophoren ist deshalb Wasser als Medium nicht geeignet. Sehr empfiehlt sich conc. Kochsalz- oder conc. Bromkaliumlösung, letztere besonders; und auch bei diesen Medien ist es noch gerathen, keine zu dünnen Schnitte zu machen, um möglichst wenig Zellen anzuschneiden. Meyer hat Recht, dass man in den Chlorophyllkörpern dieser Pflanze sog. „grana,“ also Körner erkennen kann, d. h., wenn Linsen von 1100facher Vergrösserung zur Anwendung kommen, wie er sie benutzt hat; untersucht man aber mit stärkeren Objectiven, besonders mit homogener Immersion, so kann man unschwer erkennen, dass die „grana“ nicht Kugelform besitzen, sondern die verschiedenste Gestalt zeigen und mit Farbstoff erfüllte Hohlräume darstellen, welche sich zwischen einem Schwammgerüst befinden, dessen einzelne Balken man bei höherer und tieferer Einstellung bis in's Innere des Kornes verfolgen kann. Entzieht man den Chlorophyllkörpern (z. B. von Phajus grandifolius oder Billbergia pyramidalis) den Farbstoff mit Alkohol, so erscheint das zurückbleibende Stroma farblos und dessen Hohlräume dunkel, aber durchaus nicht als gleichmässige Masse, wie es doch sein müsste, wenn einer compacten Masse „grana“ eingebettet und letztere durch Alkohol weggelöst wären. Das Balkengerüst bleibt im Gegentheil sehr schön

erhalten, und vorzüglich erkennt man es wieder, wenn man etwas Haematoxylin-Alaun zufliessen lässt. Weniger gute Präparate giebt Vallisneria spiralis, bei der die Structur auch nach dem Hinzufügen von Haematoxylin-Alaun nicht wieder gut hervortritt. Hier scheint der Alkohol auf das Stroma eingewirkt zu haben.

Schon in dem intacten Chlorophyllkorn sieht man bei Phajus und Billbergia kleine Oeltropfen, deren Natur noch deutlicher erkennbar wird, wenn man sie mit der von Meyer vorgeschlagenen Chloralhydratlösung behandelt. Jedoch verläuft die Reaction in anderer Weise wie dies Meyer für Acanthephippium silhetense angiebt. Bettet man den Schnitt direct in Chloralhydratlösung und untersucht dann, so findet man meist schon die Reaction an den Chlorophyllkörpern beendet. Ich brachte deshalb, um die verschiedenen Stadien der Einwirkung des Chloralhydrates genau beobachten zu können, den Schnitt trocken auf den Objectträger und liess dann, nachdem ich ein möglichst geeignetes Korn in einer unverletzten Zelle eingestellt hatte, das Reagens zufliessen. Zuerst erschien dann das ganze Korn heller, das Gerüst markirte sich schöner, Oeltropfen traten deutlich hervor, und die Plasmahaut erschien scharf conturirt. Nach kürzerer Zeit flossen die Oeltröpfchen zu grösseren Tropfen zusammen und trieben die Plasmamembran bauchig hervor. Das Gerüst wurde dann mehr und mehr undeutlich und aus den Maschen brachen grosse, grüngefärbte Oeltropfen hervor, welche durch die Plasmahaut zu schlüpfen versuchten. Nachdem ihnen dies nach kurzer Zeit gelungen war, schwammen sie in der Zelle umher und vereinigten sich zu noch grösseren Tropfen. Der fast farblose Rest des Kornes zeigte noch gut die Schwammstructur; man sah deutlich, dass die communicirenden Balken nicht in einer Ebene lagen, und die Maschen sicher leer waren. Auch bei allen übrigen Chlorophyllkörnern hatten die grüngefärbten Oeltropfen meist zwei bis drei im Chromatophor das Korn verlassen. Die Grösse des Stroma war während der ganzen Dauer der Reaction die gleiche geblieben. Bei Billbergia pyramidalis ist der Verlauf der Reaction, was das Austreten der Oeltropfen betrifft, fast ein gleicher; jedoch zeigt hier das zurückbleibende Stroma nur noch undeutliche Structur und seine Reste werden von den grossen Oeltropfen eingehüllt. Ueberhaupt war diese Einwirkung der Chloralhydratlösung bei allen zur Untersuchung gelangten, ölhaltigen

Chlorophyllkörpern eine ähnliche, so bei Dracaena, Aloë, Agave, Anthurium und anderen, deren Stroma mit dem von Phajus auch die Eigenschaft gemein hat, dass es durch Wasser sehr schnell zerstört wird. Dass diese Tröpfchen, welche man, wie bereits oben gesagt, schon im intacten Korn deutlich erkennen kann, Oel sind, geht aus ihrem Verhalten gegen Reagentien hervor. Sie bräunen sich bei Einwirkung von einprocentiger Ueberosmiumsäurelösung und verhalten sich auch immun gegen conc. Schwefelsäure, nachdem das Chloralhydratpräparat mit Wasser ausgewaschen war. Wenn Meyer bestreitet, dass diese Tropfen Oel sind, da sie sich nicht sofort bräunten, so ist er entschieden im Irrthum, denn auch das Oel in fettreichen Samen (z. B. denen von Ricinus communis) hat zwei bis drei Minuten nöthig, um eine dunklere Farbe anzunehmen.

Wie die Chlorophyllkörper dieser eben als untersucht genannten Pflanzen, so sind auch die der Monocotyledonen überhaupt im Grossen und Ganzen zum Structurstudium nicht sehr geeignet, weil eben die sehr häufig auftretenden Tröpfchen fetten Oeles störend wirken. Sehr wahrscheinlich waren dieselben für Meyer und die anderen Autoren die Veranlassung von „grana“ zu reden. Man kann aber deutlich die Oeltröpfchen von den Maschen unterscheiden. Erstere sind heller, fast genau runde Bildungen, letztere hingegen erscheinen dunkler und matt. So konnte ich auch bei Dracaena in einem Korn neben neun Oeltröpfchen mindestens dreimal so viel, davon deutlich verschiedene, Maschenräume zählen. Man kann deutlich erkennen, dass nicht alle Maschen des Gerüstes Oeltropfen enthalten; wo sie aber vorhanden sind, treten sie gewöhnlich buckelig aus ihnen hervor und erscheinen daher bei höchster Einstellung schon deutlich, bevor noch das Netz klar hervortritt. Auch Briosi[1]) hat schon mehrfach, namentlich in den Blättern von Musa- und Strelitzia-Arten, Oel in den Chlorophyllkörpern aufgefunden und beobachtet, dass die einzelnen Tröpfchen im normalen Korn weniger gut zu erkennen sind, als in solchen, die durch Wasser bereits zerstört sind, und dass sie bei dieser Desorganisation zu Tropfen zusammenfliessen,[2]) während sie im intacten Korn nur als eine feine Punktirung sichtbar werden. Ich habe nun auch die Chlorophyllkörper von Strelitzia reginae unter

1) Bot. Ztg. 1873, p. 532.
2) a. a. O. p. 546.

Anwendung verschiedener Medien untersucht und die Angaben von Briosi bestätigt gefunden. Ebenso wie bei den Chlorophyllkörpern von Phajus und Billbergia kann man auch bei denen von Strelitzia in Folge der Oeltropfen zu der Annahme von sog. „grana" gelangen, und da erstere rund sind, nennt sie auch Briosi „Kügelchen". Besser noch, wie bei der Quellung durch Wasser, vereinigen sie sich bei der Einwirkung von Chloralhydratlösung zu grösseren Tropfen und es findet, im Gegensatz zu Arthur Meyer's Behauptung,[1]) ein Zusammenfliessen des Oels statt. Diese Oeltropfen, die Briosischen „Kügelchen", befinden sich allerdings in den dunkleren Parthien des Chlorophyllkornes, den Maschen des Balkennetzes, sind aber durchaus nicht die Hohlräume selbst, denn nach der Entfernung der Oeltropfen und des Farbstoffes mit absolutem Alkohol bleiben dieselben immer noch als deutlich verschieden gestaltete, nicht als „Kügelchen" erscheinende Lücken zurück, deren gewundene Form man wohl schon im farblosen Stroma, besser aber noch nach dem Färben mit Haematoxylin-Alaun, wahrnehmen kann. Dasselbe gilt auch für die Chlorophyllkörper von Musa, bei der ich aber nicht die Chromatophoren aller Blätter, sondern nur verschiedener, wie es mir scheinen wollte der älteren, mit Oeltropfen fand. Nach der Extraction mit absolutem Alkohol waren auch bei Musa die „Kügelchen" oder sog. „grana" verschwunden, und man sah nur noch das communicirende Balkengerüst mit den jetzt entleerten Hohlräumen, die, sich windend, ersteres durchzogen.

Die Figuren der Chlorophyllkörper von Vallisneria spiralis, welche Meyer (16a u. b) abbildet, entsprechen dem Bilde, welches man bei 1100facher Vergrösserung erhält, die dunkleren Parthien erscheinen mehr oder weniger als sog. „grana", jedoch das Balkengerüst ist heller und nicht so grün, wie es Meyer dargestellt hat. Allerdings trifft man bei Vallisneria sehr verschiedene Bilder, neben günstigen habe ich auch sehr ungünstige gefunden, bei denen das Balkengerüst weniger gut zu erkennen war. Vielfach stören auch die Stärkekörner, die in relativ bedeutender Grösse bei Vallisneria auftreten. Auch bei den Chlorophyllkörpern dieser Pflanze habe ich eine Erklärung für Meyer's „grana" gefunden; in den dunkel er-

1) Meyer, Das Chlorophyllkorn, p. 27.

scheinenden Hohlräumen kann man nämlich noch wieder dunklere Parthien erkennen, welche allerdings rund sind.[1])

Untersucht man dann mit schwachen Linsen, so bemerkt man nur die tief dunklen runden Parthien im Hohlraum, ohne zu erkennen, dass sie nur ein Theil des letzteren sind, welcher grösser und nicht rund ist. Als einen Beweis gegen die sogen. Grana-Theorie kann man noch die eigene Angabe von Meyer ansehen, „dass die Körner nach dem Rande der Autoplasten zu häufig etwas heller erscheinen, vielleicht deshalb, weil sie dort, wie Meyer annimmt, nur weniger dick sind.“ Wären Meyer's „grana“ wirklich Körner, so ist nicht einzusehen, weshalb dieselben an den peripherischen Theilen des Chlorophyllkörpers weniger dunkel sein sollten wie im Centrum; da sie aber heller erscheinen, ist dies ein Argument dafür, dass es Hohlräume sind, da solche naturgemäss in der Peripherie eine geringere Tiefe besitzen, als in der Mitte.

Was das hyaline Plasmahäutchen betrifft, welches die Chlorophyllkörper umgiebt, so kann ich auch hierin Arthur Meyer's Ansicht nicht beipflichten, der sich gegen das Vorhandensein derselben ausspricht und behauptet, dass diese Membran ein durch Quellung entstandenes Kunstproduct sei und bei Körnern in der intacten Zelle nicht vorkäme. Ausser bei den Chlorophyllkörpern anderer Pflanzen, auf die ich weiter unten noch zu sprechen kommen werde, habe ich eine Plasmamembran auch häufig bei denjenigen Chromatophoren gesehen, welche Meyer untersucht hat, und wo sie sicher nicht erst ein secundäres Product war. Mit das beste Präparat erhielt ich von den Chlorophyllkörpern von Billbergia pyramidalis, bei denen die Hüllhaut immer gut, häufig sogar doppelt conturirt, zu erkennen war. Auch in einprocentiger Ueberosmiumsäurelösung, welche doch alle Proteïnkörper sofort fixirt, war die doppelte Contur gut sichtbar. Das bauchige Auftreten der Plasmamembran bei Phajus u. a. durch Chloralhydratlösung habe ich schon erwähnt.

---

1) Vergl. auch Tschirch, Unters. über d. Chlorophyll. Berlin 1884. Taf. 2, Fig. 23.

Den Ansichten Arthur Meyer's über die Structur der Chlorophyllkörper schliesst sich A. F. W. Schimper[1]) fast vollständig an. Nach ihm „bestehen[2]) die Chloroplasten, unsere Chlorophyllkörper, aus einem farblosen Stroma mit zahlreichen, von einer grünen, zähflüssigen Substanz erfüllten Vacuolen." Diese Vacuolen Schimper's sind vollständig dieselben Gebilde wie die sogen. „grana" Meyer's, welchen Ausdruck er deshalb auch, um Confusion zu vermeiden, annimmt. Auch Schimper hat, wie Meyer, in erster Linie die Orchideen untersucht, neben diesen aber auch die Sempervivum-[3]) und Echeveria-Arten, wo er ebenfalls deutliche „grana" gesehen haben will. Ich habe deshalb die Chlorophyllkörper auch dieser Pflanzen einer genauen Forschung unterzogen, aber immer nur, wie früher, gefunden, dass die sogen. „grana" keine runden Körper sind, sondern die mannigfachste Gestalt zeigende Hohlräume. Das gleiche gilt von der Orchidee Dendrobium chrysanthemum, bei der die Balken im Verhältniss zu den Maschen eine relativ geringe Breite zeigten. Die Chlorophyllkörper der Sempervivum- und Echeveria-Arten sind äusserst empfindlich gegen Wasser. Schon in dem Augenblick des Einlegens in dieses Medium beginnen sie zu quellen und nach kurzer Zeit zusammenzufliessen; dabei findet eine gleichmässige Vertheilung des Farbstoffes in der vollständig homogen werdenden Grundmasse statt. Ich untersuchte sie deshalb in conc. Bromkalium-Lösung, gegen die sie sich ganz immun verhielten. Sie zeigten keinen Oeltröpfchen-Einschluss und auch nur so geringe Mengen von Stärke, dass dieselbe bei der Beobachtung nicht störte; aber trotzdem erwiesen sie sich ihrer geringen Grösse wegen nicht als besonders günstige Objecte für die Structurstudien. Die dunkleren Parthien liegen dicht gedrängt zwischen den helleren Balken, so dass man ihre Form nur sehr schlecht zu unterscheiden vermag, dass sie aber nicht „kugelförmige Vacuolen" sind, erkennt man trotzdem. Geeigneter hierfür als Bromkaliumlösung erwies sich jedoch noch Pikrinsäure, die, wenn man sie nicht auswäscht, ihrer gelben Farbe wegen die Structurunterschiede gut hervortreten lässt. Als ich das Gewebe in den Dampf siedenden Wassers hing, wurde

1) Pringsheim's Jahrbücher, Band XVI: A. F. W. Schimper, Untersuchungen über die Chlorophyllkörper und die ihnen homologen Gebilde, p. 147 ff.

2) p. 152.

3) a. a. O. p. 155.

es sehr bald weich und nahm eine gelblichbraune Farbe an. Der Farbstoff war fast vollständig an die Peripherie der Körner getreten und die entleerten Hohlräume zeigten — allerdings nicht so gut, wie ich es bei Elodea und Plectogyne beobachtet hatte — eine längliche, mitunter etwas gekrümmte Form. Das Eindringen der Balken in's Innere des Kornes und das Winden der Hohlräume dazwischen habe ich nicht verfolgen können, da diese Objecte, wie gesagt, zu so subtilen Studien sich als wenig empfehlenswerth erwiesen. Bei Dendrobium waren die Maschen relativ gross; aber bei dieser Pflanze störten wiederum die Einschlüsse in den Chromatophoren. Nach der Extraction des Oels und des Farbstoffes mit absolutem Alkohol zeigte dann das Stroma allerdings gut die Structur und auch in der normalen Weise, wie ich sie bei anderen, geeigneteren Objecten gefunden hatte.

Im Gegensatz zu Arthur Meyer und in Uebereinstimmung mit mir hat auch Schimper ein Quellen der „grana" im Wasser nicht beobachten können; findet ein Quellen der Chlorophyllkörper statt, so geschieht dies immer durch Wassereinlagerung in die Balken, welche dann den Farbstoff aus den Hohlräumen herauspressen und so als eine homogene grün gefärbte Masse erscheinen.

Eine wesentlich andere Auffassung drückt Fr. Schmitz in seinen „Beiträgen zur Kenntniss der Chromatophoren"[1]) aus. Er leugnet wie Meyer die Existenz eines Plasmahäutchens und glaubt, „dass den Chromatophoren eine sehr feinnetzige Gerüststructur zugesprochen werden müsse"[2]) und dass nur die Fibrillen des Gerüstes gefärbt seien, die Zwischenräume des Gerüstes aber von einer farblosen Flüssigkeit erfüllt würden." Schmitz hat in Befolgung der Angaben Meyer's ausser den Chlorophyllkörpern der Algen auch noch die von Phajus grandifolius und Vallisneria spiralis untersucht und vertritt auch für diese Angiospermen dieselbe Ansicht, die er über die Chromatophoren der Algen und Archegoniaten gewonnen hat. —

---

1) Fr. Schmitz, Beiträge zur Kenntniss der Chromatophoren. Pringsheim's Jahrbücher, Band XV, p. 148.

2) a. a. O. p. 172.

Schmitz wendet wegen der zerstörenden Einwirkung des Wassers auf die Chromatophoren Pikrinsäure als fixirendes Medium an und glaubt den so erhaltenen Präparaten dasselbe Zutrauen schenken zu dürfen, wie den lebenden Objecten. Nach meinen Erfahrungen, die ich mit diesem Reagens gemacht habe, kann ich diese Angaben Schmitz' nur bestätigen. Es fixirt die Plasmakörper ohne Gestaltsveränderung und lässt die Structur gut hervortreten.

Wie den übrigen Chlorophyllkörpern, so schreibt Schmitz auch denen von Aloë und Dracaena eine netzfibrilläre Gerüststructur zu. Da auch ich diese Objecte eingehend geprüft hatte (die Ergebnisse der Untersuchung habe ich bereits oben, da auch Frommann dasselbe Material benutzt hat, angegeben) und immer nur ein balkenartiges Schwammgerüst constatiren konnte, bin ich zu der Ueberzeugung gelangt, dass Schmitz dasselbe beobachtet hat und nur seinen Beobachtungen eine andere Deutung und einen anderen Namen beilegt. Seine Fibrillen sind, meiner Ansicht nach, identisch mit dem Balkengerüst. Ob dasselbe aber farblos ist oder nur den Farbstoff von den Höhlungen durchscheinen lässt, dürfte schwierig zu entscheiden sein. Der Meinung aber, dass nur die Balken grün gefärbt seien, die Maschen des Gerüstes jedoch keinen Farbstoff enthielten, vermochte ich trotz meiner zahlreichen, an dem verschiedensten Material gemachten, eingehenden Untersuchungen nicht beizustimmen. Ich habe nie beobachtet, „dass gefärbte Fibrillen einen farblosen Hohlraum durchsetzen."

Was das Leugnen eines hyalinen Plasmahäutchens um die Chlorophyllkörper seitens Schmitz' betrifft, so werde ich darauf später eingehend zurückkommen.

Die letzte eingehende Arbeit über die Chlorophyllkörper veröffentlichte Frank Schwarz im Jahre 1887.[1]) Diesen Untersuchungen lag die Idee zu Grunde, durch Anwendung möglichst vieler, verschiedener Reagentien, meist Salzlösungen und solchen, die eine Quellung des Stroma bedingen, die wahre Structur dieser Körper festzustellen. Die Resultate seiner Beobachtungen drückt er

---

1) Beiträge zur Biologie der Pflanzen von Dr. Ferd. Cohn, V. Band, Heft I: Frank Schwarz, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasma. Breslau 1887.

folgendermaassen[1]) aus: „Ich gelangte dadurch zur Ueberzeugung, dass den Chlorophyllkörpern eine Fibrillenstructur zukommt, die jedoch nicht identisch ist mit der von Schmitz und Frommann beschriebenen. Die Fibrillen bilden keineswegs ein anastomosirendes Netz, an welchem die Knotenpunkte als intensiver gefärbte Körnchen erscheinen, die Fibrillen liegen vielmehr neben einander, sind wenig verschlungen, füllen die ganze Masse des Chlorophyllkörpers aus, liegen jedoch im unverletzten Chlorophyllkörper so dicht neben einander, dass man ihre Grenzen nicht wahrzunehmen im Stande ist. Sie sind gewissermaassen verkittet und mit einander verbunden durch Zwischensubstanz, welche sich durch ihre leichte Quellbarkeit, die in Löslichkeit übergehen kann, auszeichnet. Die Trennung der Fibrillen wird dadurch bewerkstelligt, dass man die Chlorophyllkörper einer geringen Quellung aussetzt, oder indem man durch passende Reagentien eine geringe Schrumpfung der Fibrillen hervorruft und so die Unterscheidung der Structurelemente möglich macht. Die Fibrillen sind nun nicht gleichmässig gefärbt, sondern enthalten grün gefärbte Vacuolen resp. Kugeln, welche mit den grana von A. Meyer identisch sind. Die übrige Fibrillensubstanz ist ebenfalls grün gefärbt, jedoch in geringerem Grade. Die Zwischensubstanz scheint keinen Farbstoff zu enthalten.

Fibrillen und Grundsubstanz sind chemisch differente Proteïnkörper, für welche ich die Namen Chloroplastin und Metaxin vorgeschlagen habe. Eine chemisch und morphologisch differente Membran ist nicht vorhanden, es ist jedoch wahrscheinlich, dass ein sog. Plasmahäutchen die Chlorophyllkörper begrenzt."

Ich stellte mir die von dem genannten Forscher benutzten Reagentien sämmtlich frisch dar und untersuchte damit das nämliche Material, welches auch er als studirt angiebt.

Frank Schwarz geht von dem einfachsten Reagens, dem Wasser, aus und beschreibt zuerst das darin stattfindende Quellen und Vacuoligwerden der Chlorophyllkörper. Er ist im Gegensatz zu A. Meyer, der diese Veränderung des Stroma durch ein Quellen seiner sogen. „grana" geschehen lässt, der Meinung, dass sie vielmehr einer Snbstanz zuzuschreiben sei, die sich zwischen den sogen. Fibrillen befände. Beides muss ich bestreiten. Das Quellen ist nur

1) a. a. O. p. 41.

eine Folge der grösseren Wassereinlagerung der Balken (Frank Schwarz' Fibrillen), und das Vacuoligwerden das grösste Stadium derselben. Ich habe nie gesehen, dass die sogen. Fibrillen durch eine Zwischensubstanz getrennt wurden, sondern dass sich zwischen ihnen nur die Hohlräume (die sogen. grana) befinden. Auch bei dem Quellen und sogar dem Vacuoligwerden findet keine andere Differenzirung statt. Die Breite der Balken wurde bedeutender und zwar um so viel, wie diese durch die Wassereinlagerung gedehnt wurden. Hierbei traten zuerst die Hohlräume deutlicher hervor; aber bald schon schritt die Quellung weiter fort und es trat, nachdem wohl bei einem gewissen Stadium ein fibrillenartiges Gebilde vorzuliegen schien, schliesslich ein vollständiges Homogenwerden ein. Jedoch verhalten sich die Chlorophyllkörper der verschiedenen Pflanzen nicht alle gleich, einige, wie Phajus und Ruscus, quellen schon auf dem Messer, andere sind weniger empfindlich. Bilder, wie sie Frank Schwarz „Taf. I, Fig. 3a" von Tradescantia zebrina abbildet, sind richtig beobachtet; „3b u. 3c" nicht ganz, denn wenn auch das Auftreten der Vacuole richtig gezeichnet ist, so sind doch seine Fibrillen (das Balkengerüst) niemals dunkel, sondern hell und nur mitunter erscheinen sie durch Rester anhängenden Farbstoffes etwas gefärbt. Die Chlorophyllkörper von Phajus, welche Frank Schwarz „Taf. I, Fig. 6" abbildet, quellen so schnell, dass man die verschiedenen Stadien kaum beobachten kann, aber niemals habe ich in der gleichmässigen, homogenen Masse einzelne Fäden mit darauf befindlichen sogen. „granis" constatiren können. Auch ist dieser Forscher der Ansicht, dass seine Fibrillen nur selten zusammenhängende Stücke bilden; das ist nicht richtig, sie bilden stets ein communicirendes Gerüst, wie er es auch „Taf. I, Fig. 16" abbildet. Verfehlt ist auch die Annahme, dass sich der Farbstoff als sogen. „grana" auf dem Gerüst befände; er befindet sich immer in den Hohlräumen zwischen den einzelnen Balken. Sehr gut vermochte ich das Quellen bei den Chlorophyllkörpern von Polypodium aureum zu verfolgen. Bei der Einwirkung des Wassers quollen dieselben zuerst etwas auf, indem die Balken durch die Wassereinlagerung breiter wurden. Als das Object ungefähr fünf Minuten in Wasser lag, wurden an den Körnern an einzelnen Stellen blasenartige Auftreibungen sichtbar, welche als kugelige Vacuolen und farblos erschienen. Da sich ihr Inhalt jedoch bei der Einwirkung

von Jod braun färbte, sind sie keine leeren Blasen, sondern bestehen aus der gequollenen Proteïnsubstanz der Balken, welche die hyaline Hüllhaut der Chlorophyllkörper emportreibt. Schreitet dann die Quellung noch weiter fort, so vermag das dünne plasmatische Häutchen den Druck nicht auszuhalten, die Blasen platzen und der Inhalt tritt heraus. Dadurch erscheint zuerst das einzelne Chlorophyllkorn und später, wenn alle Chlorophyllkörner zusammengeflossen sind, der ganze Zellinhalt als eine gleichmässig grün gefärbte Masse. Bei diesem Quellungsvorgange wurden immer alle Theile der Balken gleichmässig breiter und es fand keine Trennung von ihnen in der Weise statt, dass eine Zwischensubstanz weggelöst wurde und die Balken einzeln fibrillenartig sichtbar wurden. Wenn das der Fall gewesen wäre, dann hätten später, wenn bereits die ganze Masse homogen erschien, die sogen. Fibrillen doch noch erkennbar sein müssen, was aber nicht der Fall war.

Bei Lunularia vulgaris entstehen im Innern meist ein bis zwei Vacuolen, welche die Hüllhaut auftreiben, oder es bilden sich auch mehrere kleine, wodurch das Chlorophyllkorn schaumig erscheint. Zwischen diesen Vacuolen waren zuerst noch die Hohlräume als undeutlich dunklere Stellen sichtbar; später, als der Farbstoff sich vertheilt hatte, war die ganze Masse wiederum gleichmässig grün.

Ueber seine Beobachtungen bei der Einwirkung des siedenden Wassers auf die Chlorophyllkörper berichtet Frank Schwarz, „dass beim kurzen Eintauchen der Zellen in siedendes Wasser die Fibrillen zunächst deutlich hervortreten, jedoch keine grana zeigen, da sich der Farbstoff auch schon bei solch kurzer Behandlung mit heissem Wasser in den Fibrillen vertheilt. Lassen wir die Schnitte längere Zeit in dem siedenden Wasser, so treten aus den Chlorophyllkörpern ölige Tropfen aus, welche den grössten Theil des Chlorophyllfarbstoffes enthalten. Die zurückbleibende plasmatische Masse zeigt entweder gar keine Structur oder undeutlich dunklere Stellen.“ Die erste Beobachtung ist richtig, jedoch die Begründung nicht zutreffend, denn dass keine sogen. „grana“ mehr auf seinen Fibrillen sichtbar sind, beruht darauf, dass sich solche, wie schon angegeben, überhaupt nicht auf denselben befinden, und der Farbstoff sich nicht in den Fibrillen vertheilt hat, sondern durch das Heraustreten aus den Maschen die scharfe Contur verloren hat. Auch die zweite Beobachtung ist richtig; hätte Frank Schwarz jedoch die Schnitte noch

länger dem siedenden Wasser ausgesetzt, so würde er beobachtet haben, wie sich die Tropfen am Rande des Stroma ansammeln und dieses als farbloses Balkennetz zurückbleibt, zwischen dem die Hohlräume deutlich erkennbar sind, aus welchen der Farbstoff herausgepresst ist. Durch das Quellen der Balken und das dadurch bewirkte theilweise Zusammenfliessen sieht man die Balken breiter und in geringerer Menge. Dass die zurückbleibende plasmatische Masse gar keine Structur oder nur undeutliche dunklere Stellen zeige, ist nicht richtig, sondern man erhält Bilder, wie sie auch schon Pringsheim's Untersuchungen ergeben haben, deren Resultate bereits oben von mir besprochen sind.

Das Ergebniss meiner Untersuchung der von Frank Schwarz empfohlenen Objecte für Wasser als Reagens ist folgendes:

Die Chlorophyllkörper enthalten nicht eine unlösliche Substanz, das Chloroplastin, welches Fibrillen bildet, auf dem sich „grana" befinden, und eine lösliche, das Metaxin, welche die Fibrillen verkittet, sondern das Stroma bildet ein Gerüst von Balken (Frank Schwarz' Fibrillen), zwischen denen sich das Farbstoffgemenge[1]) in halbflüssiger Form — wie dies ja auch Tschirch annimmt — und in Verbindung mit anderen Substanzen in den Maschen eingelagert findet.

Als weiteres Reagens wandte Frank Schwarz Zuckerlösung und Eiweiss an. Die Einwirkung dieser auf die Chlorophyllkörper kann ich hier übergehen, da sie nur wenig belangreiche Resultate für unsere Forschungen ergeben haben. Wichtiger jedoch ist das Verhalten von Salzlösungen, besonders des Kochsalzes. Die Einführung dieses Reagens zu Structurstudien ist eine gute Neuerung, für die wir Frank Schwarz danken müssen, aber nicht deshalb, weil man in ihm als Medium die sogen. „Fibrillen" und „grana" gut erkennen könnte — davon ist auch in der Kochsalzlösung nichts zu sehen —, sondern weil es dieselbe Structur, die man schon im Wasser, Glycerin und fettem Oel erkennt, noch deutlicher hervortreten lässt. In dreissigprocentiger Chlornatriumlösung findet keine Einwirkung auf das Korn statt, und die Präparate liefern so klare Bilder, wie

1) Ich darf nach den Untersuchungen von Kraus, Pringsheim und Tschirch wohl als sichergestellt annehmen, dass es ein Farbstoffgemenge aus Chlorophyll und Xanthophyll ist.

in keiner anderen Einbettungsflüssigkeit. Eine zehnprocentige Kochsalzlösung wirkt sofort garnicht ein; erst nach 24 Stunden ist eine geringe Quellung der Balken zu beobachten. Die Existenz solcher rosenkranzartigen Gebilde aber, wie Frank Schwarz „Taf. I, Fig. 27 u. 28“ für Chlorophyllkörper von Fittonia Verschaffelti nach 24stündigem Liegen in einer zehnprocentigen Kochsalzlösung gesehen haben will, habe ich niemals erhalten können und muss deren Existenz bestreiten. Die Balken erscheinen vielmehr als ein zusammenhängendes Gerüst, und sie differenziren sich nicht in eine Grundsubstanz und sogen. Fibrillen, welche sich durch Schrumpfung von ersterer trennen. Man kann in diesen Chlornatriumpräparaten wegen der Klarheit der Bilder sehr gut die Structur und auch das Auf- und Niedersteigen der einzelnen Balken verfolgen; man vermag deutlich zu beobachten, wie sie theils einzelne Maschen von einander trennen, theils dieselben quasi überbrücken. Auch ist das Balkengerüst stets heller wie die sog. „grana,“ die doch den Farbstoff enthalten, und nicht umgekehrt, wie er es bei den nämlichen Bildern zeichnet. Auch von einer Zwischensubstanz, seinem Metaxin, konnte ich nichts sehen; tritt nach 24stündiger Einwirkung der 10 % Chlornatriumlösung eine Quellung der Chlorophyllkörper ein, so erstreckt sich diese immer auf die ganze Masse der Balken, aber nie nur auf einen Theil, während der andere davon ausgeschlossen bliebe und als sog. Fibrillen sichtbar würde. Frank Schwarz' Zeichnung Fig. 26 ist einem Chlorophyllkorn von Fittonia, wenn man es mit schwachen Linsen betrachtet, noch am ähnlichsten; aber auch dann sieht man die sog. „grana“ nie so rund, wie er sie abgebildet hat, sondern in ganz unregelmässigen Formen. Mit starken Immersionslinsen und bei verschiedener Einstellung des Mikroskopes sieht man jedoch in der Kochsalzlösung sehr gut, wie die Balken des Gerüstes verschwinden, und wie auch die Köpfe der Balken deutlich hervortreten. Von den Chlorophyllkörpern von Tradescantia virginica in vierprocentiger Chlornatriumlösung sagt Fr. Schwarz, „dass deren Fibrillen zwar nicht wesentlich aus einander getrieben, aber doch sehr deutlich gemacht würden, indem ihre Conturen besser hervortreten.“ Auf der hierzu gehörigen Abbildung (Taf. I, Fig. 41) zeichnet Frank Schwarz seine Fibrillen und sog. „grana“ viel weniger deutlich wie bei den früheren Bildern. Ich sehe zwar hier davon auch nichts, aber die sog. „grana“ doch mehr oder weniger

in Reihen hinter einander (bei schwachen Objectiven). Da dieselben nun ausserdem noch dunkler sind wie das übrige Korn, so erscheinen auch die Parthien zwischen ihnen in der Reihe dunkler, so dass man wohl zu dem Trugbild eines fibrillenartigen Bandes mit darauf befindlichen „granis“ kommen kann. Ein wirkliches Band liegt jedoch nicht vor; läge ein solches vor, so müsste dasselbe doch einen deutlichen Rand zeigen, was nicht der Fall ist.

Magnesium- und Ammoniumsulfat-Einwirkungen können ihrer unbedeutenden Resultate wegen übergangen werden, ebenso Kalium und Natriumphosphat, die ich aber natürlich alle geprüft habe. Vom Kalkwasser behauptet Frank Schwarz, dass dasselbe die Chlorophyllkörper sehr stark quelle und giebt dazu Zeichnungen (Taf. I, Fig. 50 u. 51), die das gequollene Korn nur noch als eine gleichmässige homogene Masse zeigen. Ich finde dagegen, dass sie in Kalkwasser nur etwas stärker quellen als in gewöhnlichem Wasser. In den dunkleren Parthien, deren Contur undeutlicher wird, sind auch hier wieder dunkle Stellen zu erkennen, welche nach der Peripherie zu heller erscheinen. Da ich solche homogen verquollenen Präparate, wie sie Frank Schwarz „Fig. 51“ abbildet, nicht erhalten konnte, kam ich auf die Vermuthung, dass Frank Schwarz von dem bereiteten Kalkwasser sogleich den ersten Aufguss, der immer stark Natriumhydrat haltig ist, als Reagens verwandt habe. Ich benutzte einen solchen und fand meinen Verdacht bestätigt. Das natriumhydrathaltige Kalkwasser wirkt auf die Chlorophyllkörper so stark quellend wie verdünnte Natronlauge; die beiden Zeichnungen von Frank Schwarz Fig. 51 und Fig. 55, von denen erstere das Einwirken seines Kalkwassers, letztere das von Kalilauge veranschaulicht, sind deshalb auch ganz ähnlich. Auch der Richtigkeit des Bildes von Fittonia (Fig. 52) kann ich nicht zustimmen, da es mir nicht möglich war, derartige Fibrillen mit einer Zwischensubstanz zu beobachten.

Bei dem Einlegen in Kalilauge ist, wie Frank Schwarz richtig angiebt, von einer feineren Structur nichts zu beobachten, die Chlorophyllkörper quellen vollständig homogen auf.

Verdünnte Essigsäure wirkt auf die Proteïnkörper theilweise fixirend. Dies kann man sehr gut an dem Protoplasma erkennen, in welchem sich Stäbchen und Körnchen bei Einwirkung dieser Säure ausscheiden. In den Chlorophyllkörpern wird jedoch die

Structur durch die verdünnte Essigsäure nicht deutlicher, indem die Balken quellen, Vacuolenbildung eintritt und der Farbstoff aus den Maschen heraus sich gleichmässig vertheilt, so dass man dann nur noch undeutliche, dunklere Stellen erkennen kann. An manchen Körnern waren zwei Vacuolen zu erkennen, aber einen Haufen von Blasen, wie sich Frank Schwarz ausdrückt und wie er ihn Fig. 59 und Fig. 60 abbildet, war mir nicht möglich zu beobachten. Die verdünnte Säure ist also zum Structurnachweis absolut ungeeignet. Vorzüglich lässt sich aber immer das Plasmahäutchen erkennen, und am besten dort, wo mehrere Körner zusammenliegen. Bei der Einwirkung der zehnprocentigen Essigsäure treten zuerst die sog. „grana" deutlicher hervor, aber auch hier niemals rund, sondern sie zeigen verschiedene Form. Allmählich verlieren sie ihre scharfe Contur und man sieht dann nur noch undeutliche dunklere Stellen in der Grundmasse.

Das Studium der Einwirkung von Metallverbindungen und Verdauungsfermenten erbrachte für die vorliegende Frage keine belangreichen Ergebnisse.

Das summarische Resultat meiner Nachuntersuchungen mit Frank Schwarz' Reagentien ist folgendes:

Das Stroma der Chlorophyllkörper besteht nicht aus Fibrillen mit darauf befindlichen granis und einer Zwischensubstanz, sondern aus einem Balkengerüst, welches in seinen Maschen, den sog. „granis," den Farbstoff trägt. Die Balken communiciren und sind keine unverzweigten Fäden.

In mehreren vorläufigen Mittheilungen,[1]) die in erster Linie auf den Chlorophyllfarbstoff Bezug haben, und die im Jahre 1884 zu einer grösseren Publication[2]) zusammengefasst wurden und welcher noch eine Entgegnung[3]) für Schmitz und A. Meyer bald nach-

---

1) Untersuchungen über das Chlorophyll: I. Sitzungsberichte d. botan. Vereins d. Prov. Brandenburg, April 1882; II. Abhandl. des botan. Vereins d. Prov. Brandenburg, XXIV, p. 124; III. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellschaft, Bd. I, p. 137) und zur Morphologie der Chlorophyllkörner (Ber. d. deutsch. botan. Gesellschaft, Bd. I, p. 202).

2) Tschirch, A., Untersuchungen über das Chlorophyll. Berlin 1884, p. 6.

3) Morphologie der Chlorophyllkörner (Sitzungsbericht der Gesellschaft naturforschender Freunde zu Berlin 1884, No. 5, p. 72).

folgte, hat Tschirch seine Meinung über die Structur der Chlorophyllkörper ausgesprochen.

Ich habe auch das von Tschirch durchforschte Material einer eingehenden, durchaus objectiven Nachuntersuchung unterzogen und das Ergebniss seiner Arbeiten, sowohl was die Plasmamembran als auch was die Structur der Chlorophyllkörper anbetrifft, vollkommen bestätigt gefunden.

Zunächst sei darauf aufmerksam gemacht, dass bereits Sachs eine Hüllhaut um die Chromatophoren gesehen haben muss, da er diese Körper für Bläschen hielt und ein Bläschen ohne Hüllhaut doch nicht denkbar ist. Tschirch behauptet auch nicht, dass die Membran ein derbes Gebilde sei, sondern nur ein hyalines Häutchen. Wenn A. Meyer sagt, dass dieselbe ein Kunstproduct wäre, durch Quellung entstanden, so kann ich das auf das Entschiedenste bestreiten. Die Hüllhaut war nicht nur sichtbar bei Chlorophyllkörpern von Wasserpflanzen, wie Elodea, Nitella, Vallisneria, für die doch Wasser sicher das geeignetste Untersuchungsmedium ist, sondern auch bei Landpflanzen, und bei diesen am deutlichsten nicht etwa in den Medien, die eine Quellung des Stroma bedingen, sondern gerade im Gegentheil in der fixirenden Ueberosmiumsäure. Bei Billbergia pyramidalis, welche Chlorophyllkörper von ziemlicher Grösse enthält, lag die Hüllhaut meist dicht an, häufig jedoch auch befand sich zwischen dem grüngefärbten Balkengerüst und dem Häutchen ein farbloser Raum. In Wasser und noch besser in Ueberosmiumsäure ist dies zu erkennen; bei besonders günstigen Präparaten sieht man die Membran sogar doppelt conturirt. Auch Plectogyne variegata ist ein geeignetes Material für die Membranstudien.

In Zellen, wo die Chlorophyllkörper dicht gedrängt liegen, berühren sie sich, wie schon Tschirch hervorhob,[1]) trotzdem nie direct mit ihrem grün gefärbten Balkengerüst, sondern nur mit der hyalinen Hüllhaut, obgleich sie sogar meist durch den starken gegenseitigen Druck polyedrische Gestalt annehmen. Dass die hyaline Hüllhaut nicht ein Theil des Zellplasma ist, sondern dem Korne angehört, geht daraus hervor, dass häufig noch minimal dünne

1) Sitzungsbericht der Ges. naturf. Freunde 1884, p. 84 und Tschirch, Unters. über d. Chlorophyll. Berlin 1884, Taf. I, Fig. 1.

Streifen körnigen Protoplasma sich zwischen den Membranen zweier benachbarter Körner befinden, und so ein deutlicher Unterschied zwischen Hüllhaut des Kornes und Zellplasma constatirt werden kann. Sehr gut ist dies bei Mnium zu beobachten. Und es läge, wie Tschirch richtig sagt, gar kein Grund vor, dass sich benachbarte Chlorophyllkörper gegenseitig abplatteten, wenn sie sich nicht direct berührten und die hyaline Hüllhaut ein Theil des Protoplasma wäre. Dass die Hüllhaut eine optische Täuschung, „ein Lichthof" sei, wie Schmitz behauptet, ist absolut ausgeschlossen, denn dann müsste ein solcher Lichthof doch auch an allen anderen körnigen Gebilden, besonders der Stärke, zu beobachten sein. Diese Körner berühren sich aber stets direct und sind nie von einem „Lichthof" umgeben.

Was die Structur der Chlorophyllkörper betrifft, so ist Tschirch bei seinen Studien darüber, die er hauptsächlich an solchen von Selaginella gemacht hat, zu der, wie bereits oben erwähnt, auch schon von Pringsheim vertretenen Vorstellung gelangt, „dass ein feines Maschenwerk von Plasmabalken vorliegt, die zwischen sich zahlreiche, unregelmässig geformte und gewundene Hohlräume erkennen lassen." Auch diese Ansicht kann ich nicht nur für Selaginella, sondern auch für all' die übrigen Pflanzen, deren Chromatophoren ich untersucht habe, und bei denen andere Autoren „grana" und „Fibrillen" gesehen haben wollen, bestätigen. „Grana" scheinen stets einer gleichmässigen Grundmasse eingebettet zu sein, wenn man mit schwachen Linsen untersucht, aber auch dann noch ist zu erkennen, dass sie keine Kugelform haben, sondern verschieden gestaltet sind. Betrachtet man aber mit starken Immersionslinsen lange das Bild, so sieht man, wie die „grana" nur die Hohlräume sind, die sich zwischen den Balken des Gerüstes befinden. Diese liegen nicht in einer Ebene, sondern bei verschiedener Einstellung des Mikroskopes sieht man sie in der Tiefe verschwinden und wieder auftauchen. Deutliche Bilder dafür liefern unter anderen Vallisneria und Fittonia. Diese Bilder sind auch nicht etwa durch Einwirken des Mediums entstandene Producte, sondern ich studirte die Präparate stets in Oel und in zweiter Linie erst in anderen Flüssigkeiten. Ich habe aber constatiren können, dass in conc. Chlornatrium-, Bromkalium- und Ueberosmiumsäurelösung die Präparate ebenso erscheinen wie in fettem Oel. Ein sehr gutes Bild für die Structur-

verhältnisse liefern die grossen Chlorophyllkörper von Phajus grandifolius, wenn man das Gewebe erst mit absolutem Alkohol entfärbt und damit auch den Chromatophoren das bei der Beobachtung störende Oel entzieht. Als ich dann ein so behandeltes Präparat mit Haematoxylin-Alaun färbte, war ich keinen Augenblick darüber im Zweifel, dass ein balkenartiges Schwammgerüst vorlag.

Was die Vertheilung des Farbstoffes in den Chlorophyllkörpern betrifft, so bin ich der Ansicht, dass sich derselbe in den Maschen befindet; ich lasse aber die Frage offen, ob auch die Balken gefärbt sind oder nur von dem durchscheinenden Farbstoff gefärbt erscheinen. Das Vorhandensein des Farbstoffes in den Maschen geht ausser aus den Untersuchungen von Pringsheim daraus hervor, dass die Chromatophoren in den jungen, hellgrünlichen, eben über die Erde tretenden Cotyledonen nur eine undeutliche Structur erkennen lassen, während dieselbe in dem Maasse zunimmt, wie die Cotyledonen eine dunkelgrüne Farbe annehmen.

Nachdem ich nun das von den einzelnen Autoren als besonders günstig empfohlene Material einer eingehenden kritischen Nachuntersuchung unterzogen hatte, bin ich unter Wahrung eines absolut objectiven Standpunktes zu folgender Ueberzeugung gelangt:

Während die Vorstellungen von Meyer, Schimper, Schmitz und Frank Schwarz auf eine verschiedene Deutung, sonst im Grossen und Ganzen richtigen Beobachtungen, zurückzuführen sind, liegen den Frommann'schen Ansichten richtige Beobachtungen überhaupt nicht zu Grunde. Die zuverlässigen Beobachtungen Pringsheim's, vorwiegend an durch Hitze und Reagentien veränderten Körpern, haben zwar nicht direct, aber indirect zu der richtigen Auffassung über die Structur der Körner geführt, die in der von Tschirch vertretenen Ansicht über die am lebenden Korne[1]) beobachtete balkengerüstartige Schwammstructur ihren Ausdruck gefunden hat. Die irrige Vorstellung, dass runde „grana" einer gleichmässigen Grundsubstanz eingebettet seien, ist nur dadurch in die

1) a. a. O. p. 14.

Litteratur gekommen, dass die Vertreter derselben vorwiegend Körner von Pflanzen (Orchideen etc.) untersucht haben, die, da sie in den Körnern Oeltröpfchen enthalten, mehr wie andere das Vorhandensein von granis vortäuschten. Sobald man von anderen Pflanzen ausgeht, wird man niemals zu der Vorstellung, es seien „grana“ vorhanden, gelangen. Ich bin vollkommen von der Richtigkeit der von Tschirch geäusserten Ansicht über die Organisation der Chlorophyllkörper überzeugt.

Folgende Sätze lassen sich demnach aufstellen:

1. Das Grundgerüst der Chorophyllkörper zeigt Schwammstructur.
2. Die hellen Balken liegen nicht in einer Ebene und stehen in Verbindung unter einander.
3. Die hellen Balken sind keine Fäden (Fibrillen).
4. Die Maschen zwischen den Balken sind unregelmässig, nicht immer rund.
5. Die Maschen erscheinen dunkler als das helle Gerüst, in ihnen liegt also vornehmlich der Farbstoff.
6. Dann und wann findet man runde Oeltröpfchen in einzelnen der Maschen, die sehr wahrscheinlich der Grund gewesen sind, von granis zu reden.
7. Grana, d. h. in eine farblose oder hellere Grundmasse eingebettete Körner sind nirgends nachzuweisen.
8. Für die Annahme von Fibrillen liegen ausreichende Gründe nicht vor.
9. Das Gerüst ist sehr engmaschig, der Durchmesser der Balken ist etwa gleich dem der Maschenräume.
10. Eine Plasmamembran um das Korn ist besonders bei Anwendung von Reagentien in bei weitem den meisten Fällen sicher nachzuweisen.
11. Die ölreichen Chlorophyllkörper monocotyler Pflanzen eignen sich zum Studium der Structur ebenso wenig, wie die dünnen Ueberzüge von Chlorophyllkornsubstanz über Stärkekörner.
12. Das beste Material zum Studium der Structur sind stärkefreie, consistente Chlorophyllkörner, denn

13. die Widerstandsfähigkeit der Chromatophoren verschiedener Pflanzen, ja selbst derjenigen ein und derselben Pflanze, Reagentien, ja selbst Wasser gegenüber ist oft ausserordentlich verschieden; während die einen schon durch Wasser völlig zerstört werden, bleiben andere oft energischen Reagentien gegenüber widerstandsfähig.

Vorliegende Arbeit habe ich in dem unter Leitung des Herrn Professor Dr. A. B. Frank stehenden pflanzenphysiologischen Institut der Königl. landwirthschaftlichen Hochschule zu Berlin auf Anregung des Herrn Professor Dr. A. Tschirch ausgeführt. Es sei mir an dieser Stelle noch besonders gestattet, Herrn Professor Dr. A. Tschirch für die freundliche Unterstützung und für das warme Interesse, welches er der Förderung meiner Arbeit angedeihen liess, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.